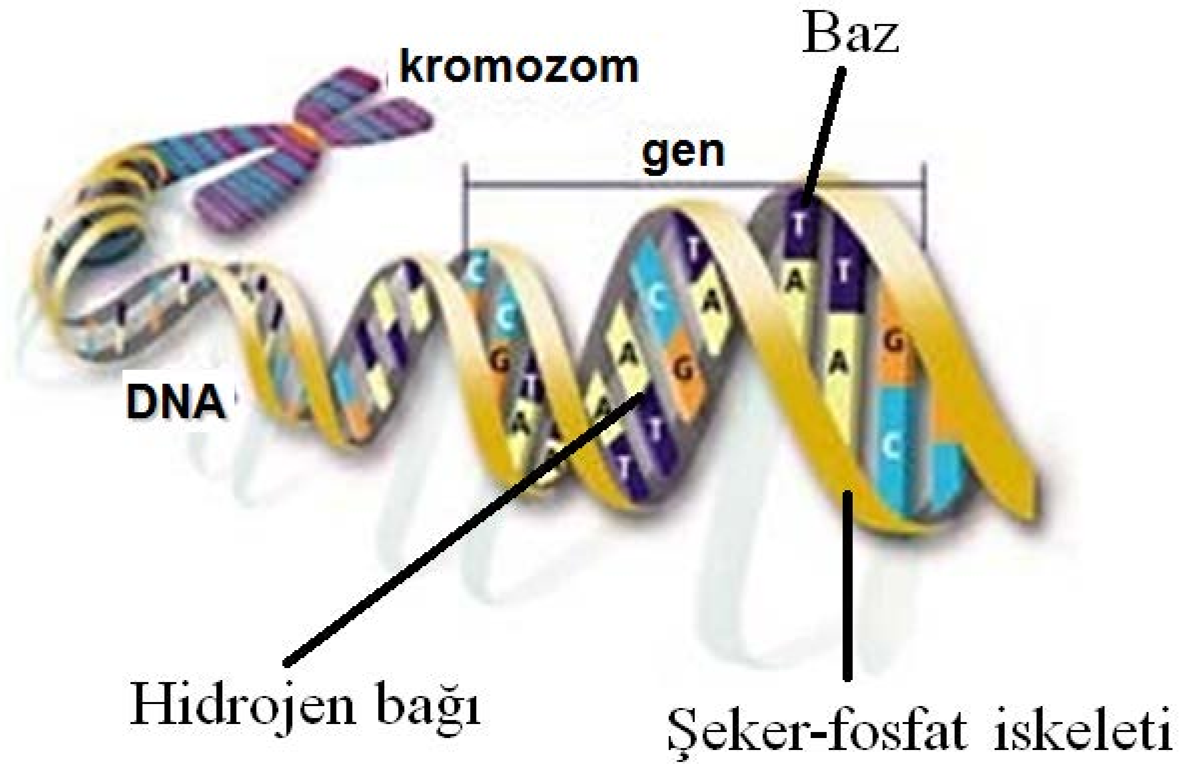
DNA, RNA, replikasyon, transkripsiyon, translasyon

Doç.Dr.Pınar AKSOY SAĞIRLI

İnsan vücudunda bulunan trilyonlarca hücre, bölünerek birbirinden çoğalıyor. İlk hücreden sonra bölünerek çoğalan her hücrede, tüm genetik bilgi vardır.



Hücre →Çekirdek →Kromozom →Gen→DNA

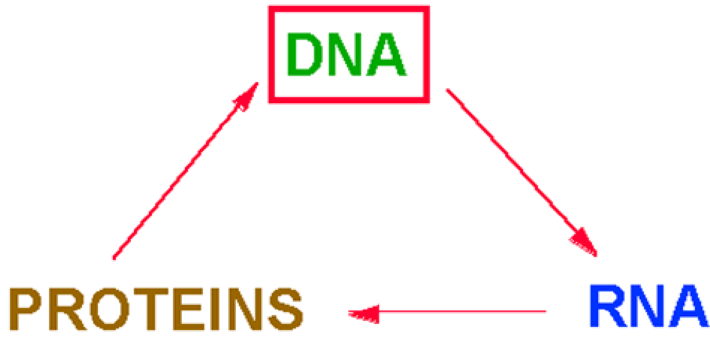
Nükleik asidler

- Genetik bilginin depolanması ve ifade edilmesini sağlar.

DNA (Deoksiribonükleik asidler)

RNA (Ribonükleik asidler)

Hücrede kalıtım bilgisinin akış yönü DNA→RNA → Protein şeklindedir



DNA - Genetik bilgiyi taşıyan DNA, bu bilgileri replikasyonla aktarabilmekte veya mutasyon, rekombinasyon, transpozisyonla değişikliğe uğratabilmektedir.

RNA – Protein sentezini yöneterek DNA tarafından taşınan genetik bilginin açığa çıkmasını sağlamaktadır.

NUKLEOPROTEİN

NUKLEİK ASİD → **NUKLEOTİD**

PROTEİN
(histon, protamin sınıfından)

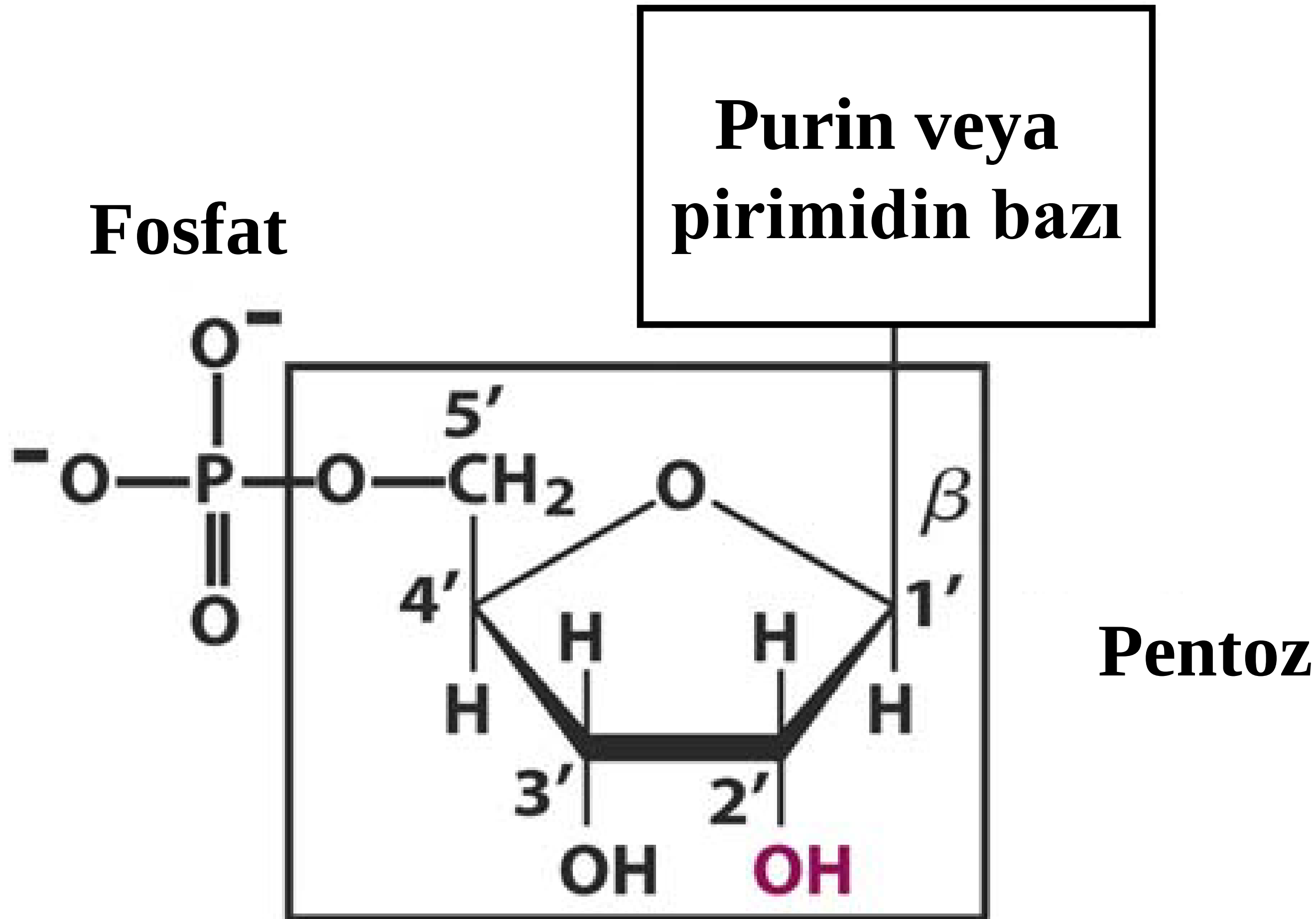
NUKLEOTİD → **FOSFORİK ASİD**, **NUKLEOZİD**

NUKLEOZİD → **PURİN veya PİRİMİDİN**, **PENTOZ**

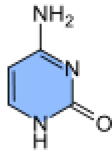
PURİN veya	PİRİMİDİN	PENTOZ
Adenin	Sitozin	Riboz
Guanin	Urasil	Dezoksiriboz
	Timin	

Nukleotid yapısı

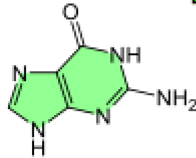
Nukleotidlerin yapısında bir azotlu baz (purin veya pirimidin), bir pentoz monosakkaridi ve bir, iki veya üç tane fosfat grubu bulunur



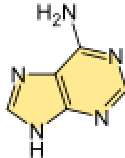
Cytosine **C**



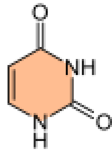
Guanine **G**



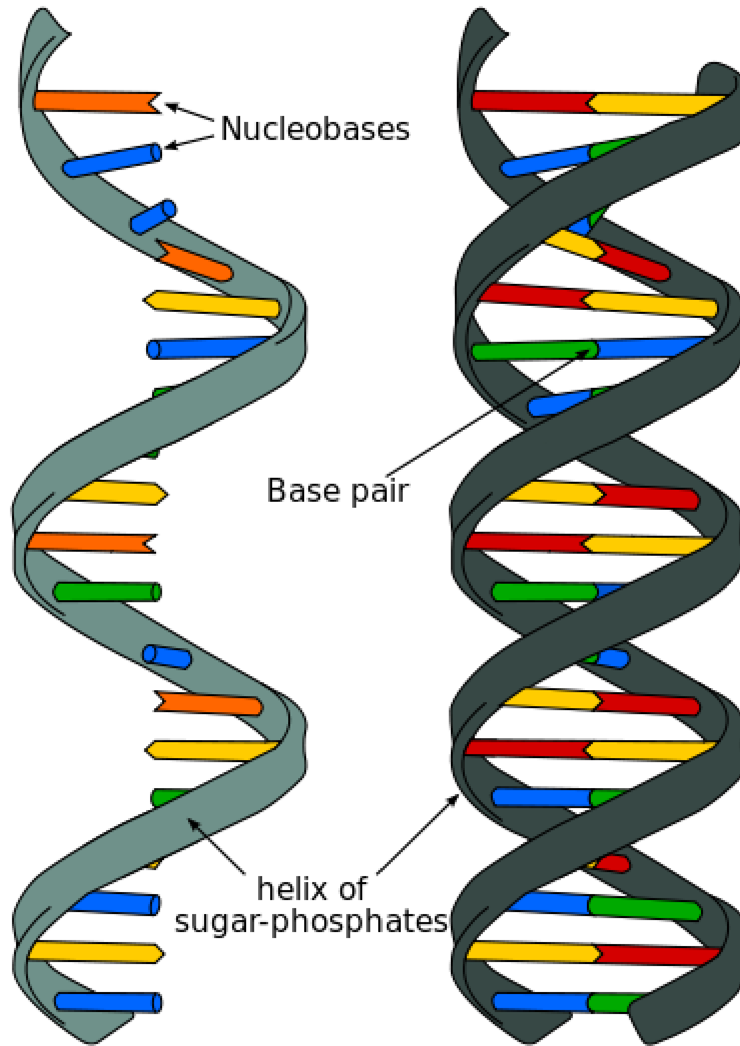
Adenine **A**



Uracil **U**



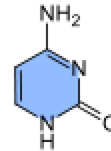
Nucleobases of RNA



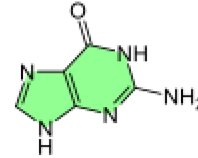
RNA
Ribonucleic acid

DNA
Deoxyribonucleic acid

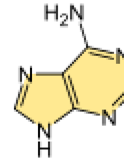
Cytosine **C**



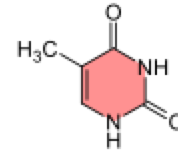
Guanine **G**



Adenine **A**



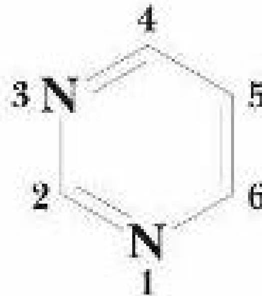
Thymine **T**



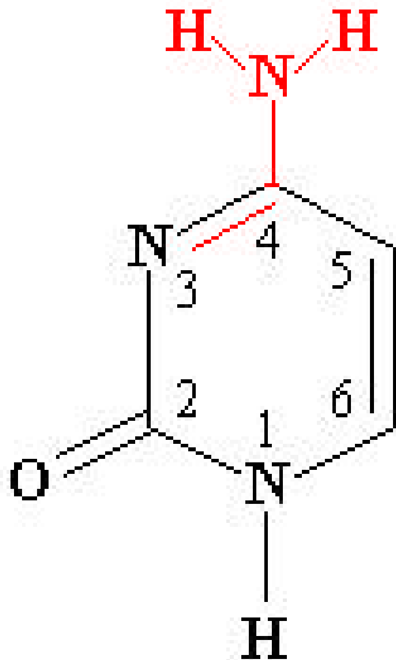
Nucleobases of DNA

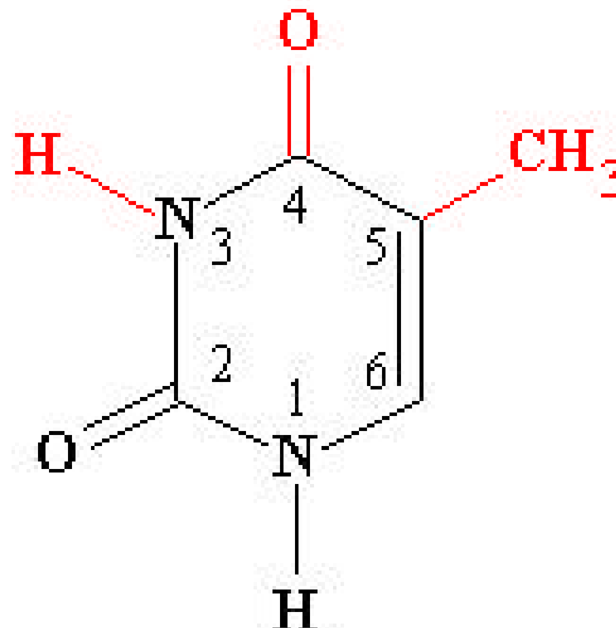
Purin	Nukleozid	Nukleotid
Adenin	**Adenozin**	**AMP**
Guanin	**Guanozin**	**GMP**
Hipoksantin	**İnozin**	**IMP**
Ksantin	**Ksantozin**	**XMP**
Pirimidin		
Sitozin	**Sitidin**	**CMP**
Timin	**dTimidin**	**dTMP**
Urasil	**Uridin**	**UMP**

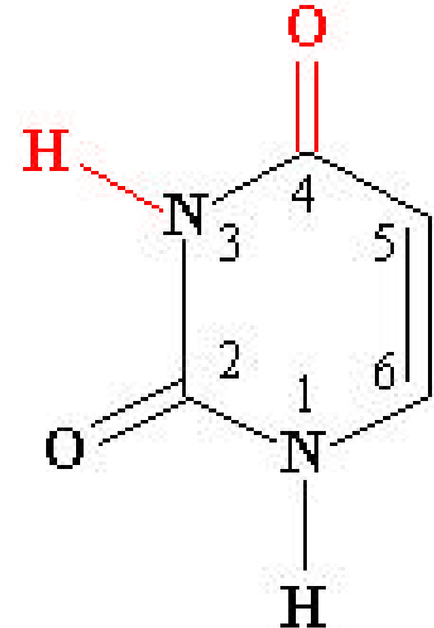
PİRİMİDİNLER



Pirimidin

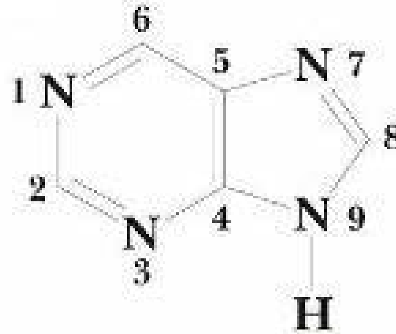




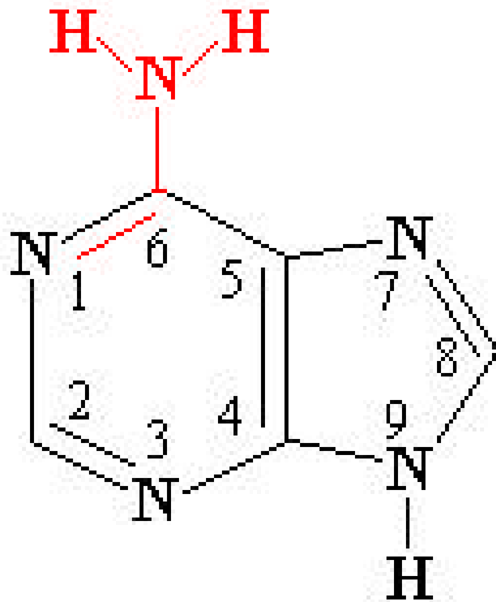


Sitozin (RNA ve DNA) **Timin (DNA)** **Urasil (RNA)**

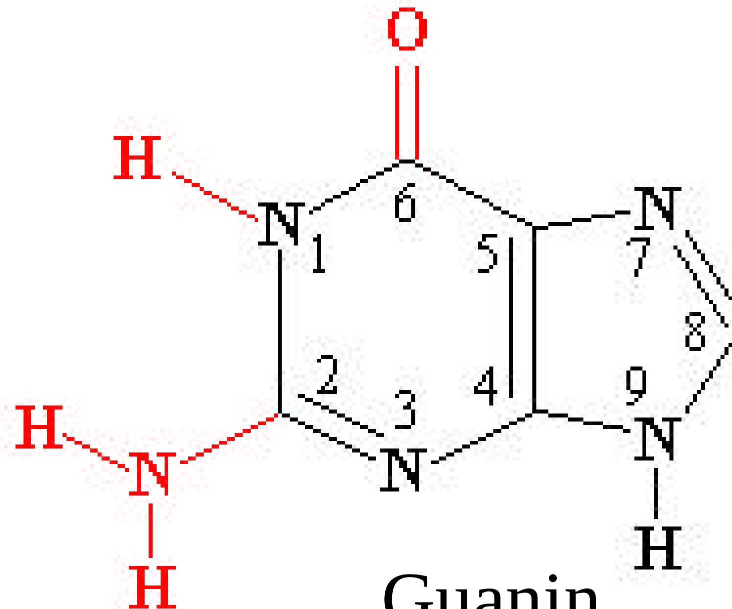
PURİNLER



Purin



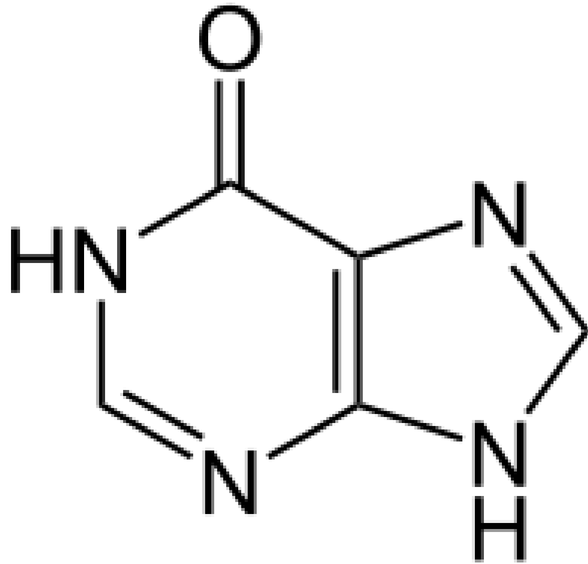
Adenin
(DNA ve RNA)



Guanin
(DNA ve RNA)

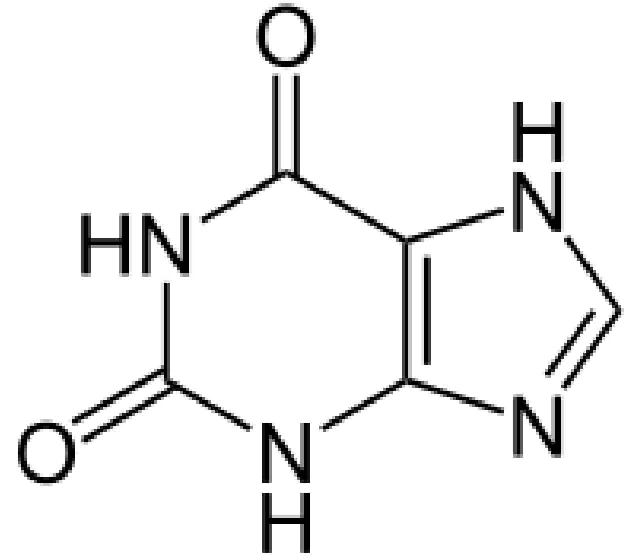
Adenin dezaminasyonu

Guanin dezaminasyonu



Hipoksantin

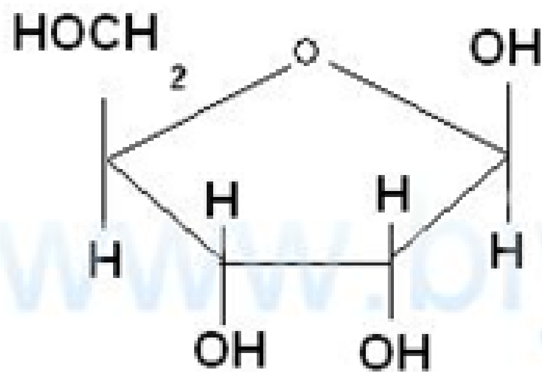
(6-Hidroksipurin)

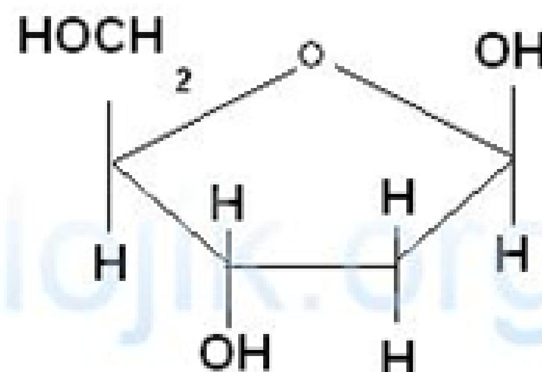


Ksantin

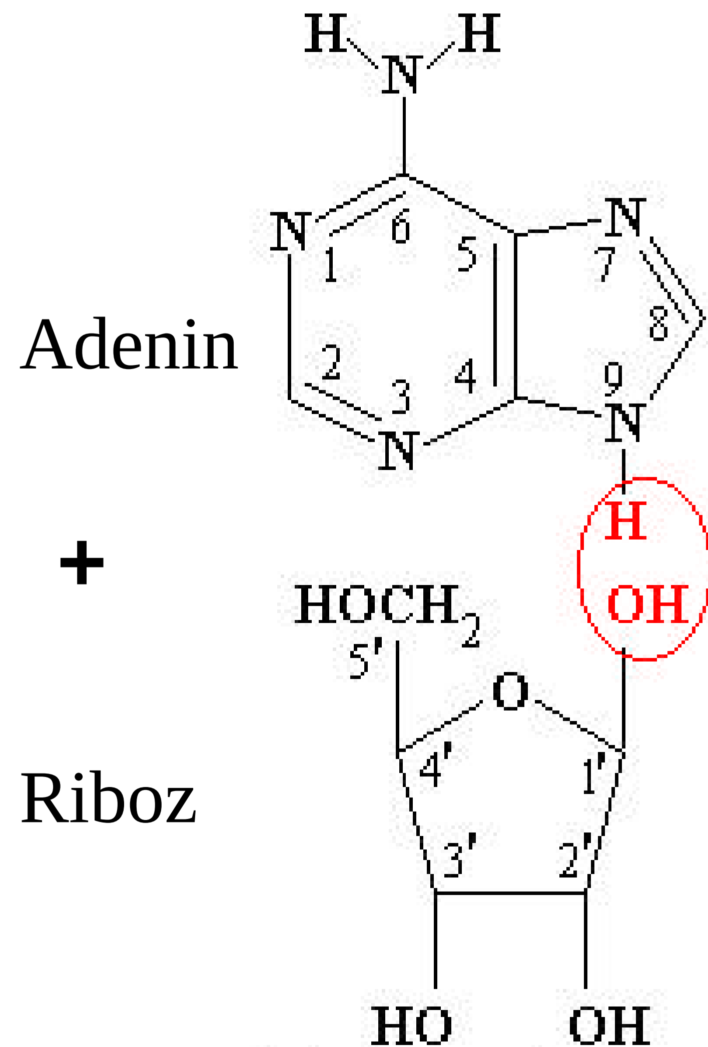
(2,6-Dihidroksipurin)

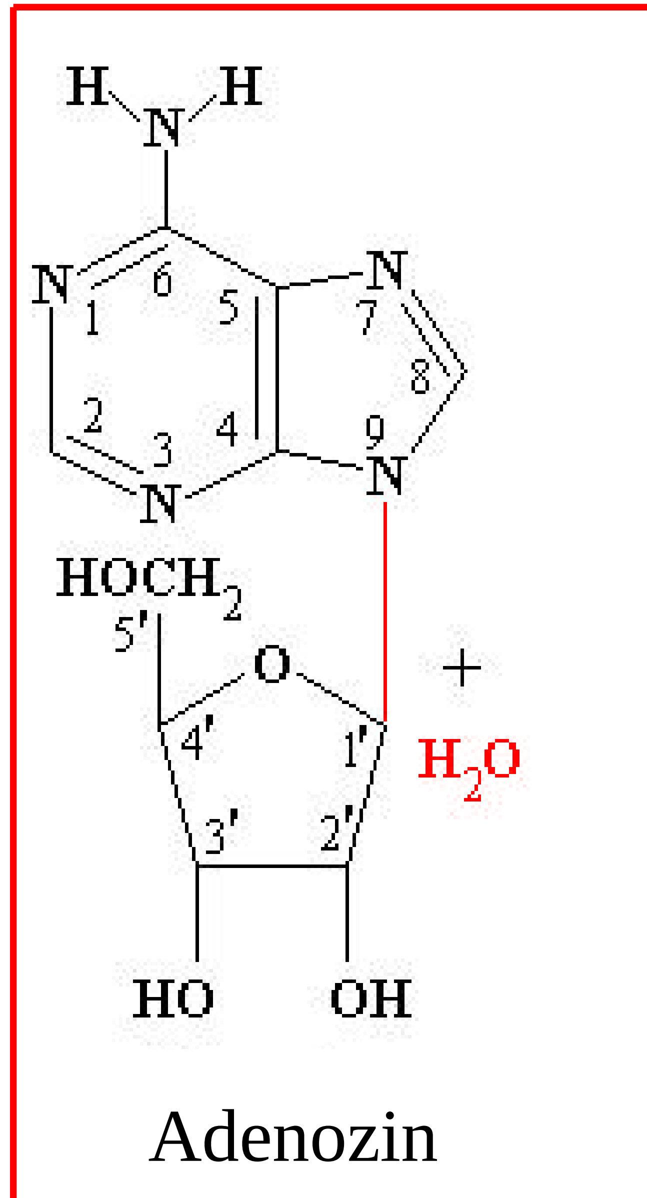
Pentozlar

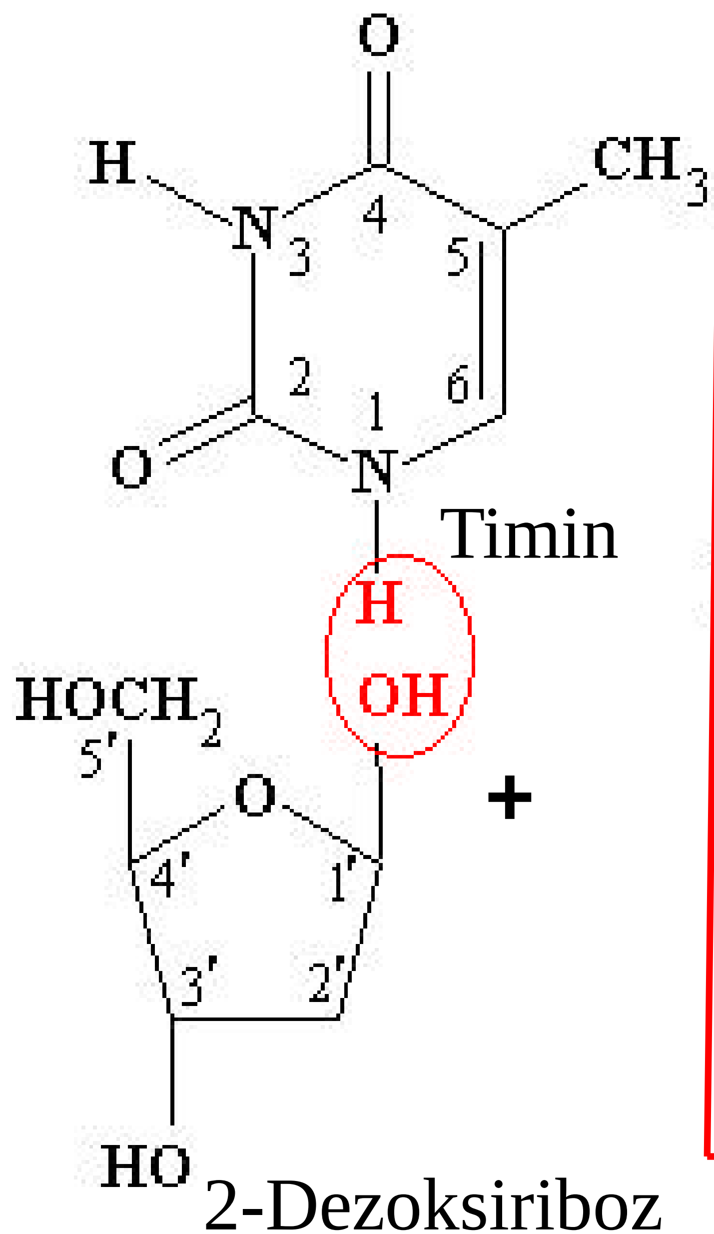




Nukleozidler







O

H

CH3

N 3

4

5

2

1

6

O

N

HOCH2

5'

O

+

4'

1'

H_2O

3'

2'

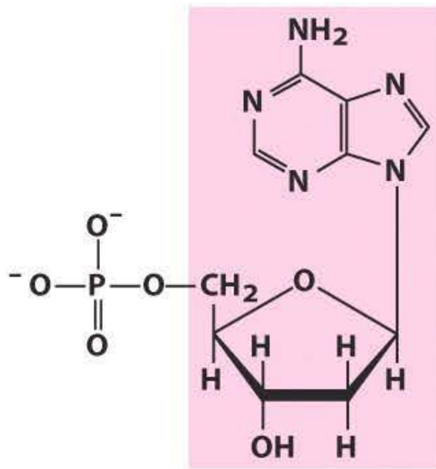
HO

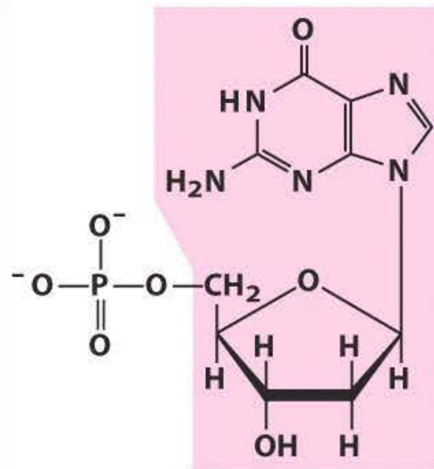
2-Dezoksitimidin

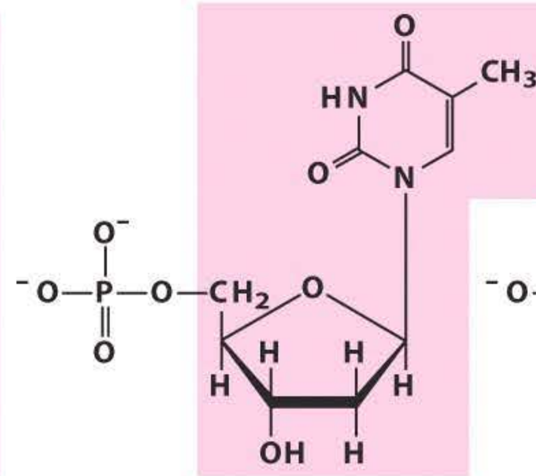
Nukleotidler

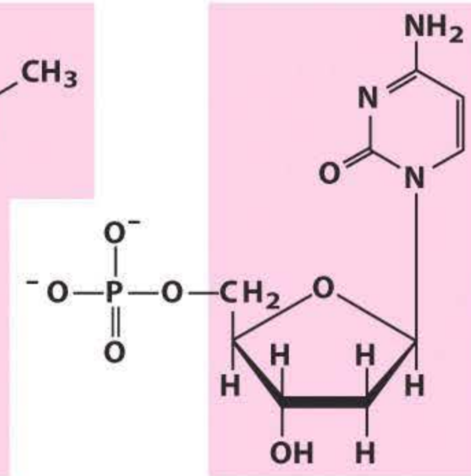
Nukleozidlerin fosfat esterleridir

Dezoksiribonukleotidler







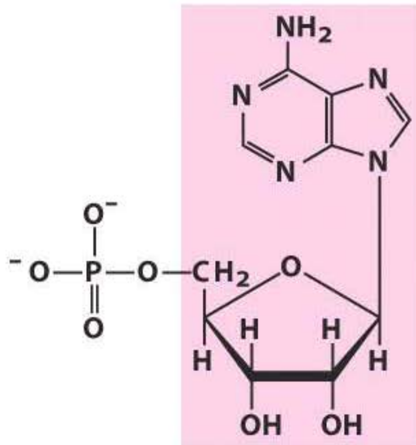


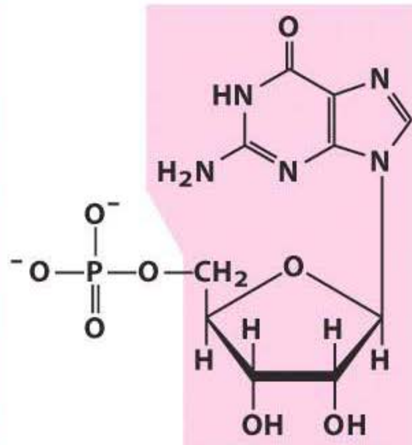
Nukleozid: Dezoksiadenozin Dezoksiguanozin Dezoksitimidin Dezoksisitidin

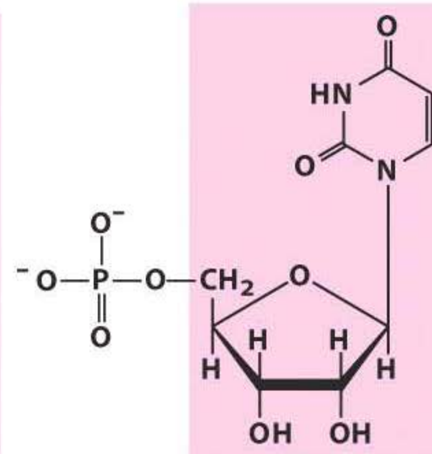
Nukleotid: Dezoksiadenilik asid Dezoksiguanilik asid Dezoksitimidilik asid Dezoksisitidilik asid

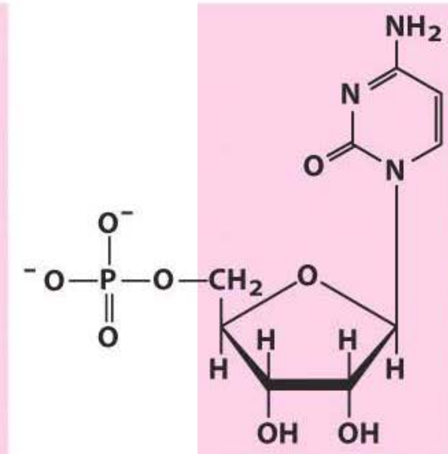
Dezoksiadenozin 5'-monofosfat (dAMP)	**Dezoksiguanozin 5'-monofosfat (dGMP)**	**Dezoksitimidin 5'-monofosfat (dTMP)**	**Dezoksisitidin 5'-monofosfat (dCMP)**

Ribonukleotidler







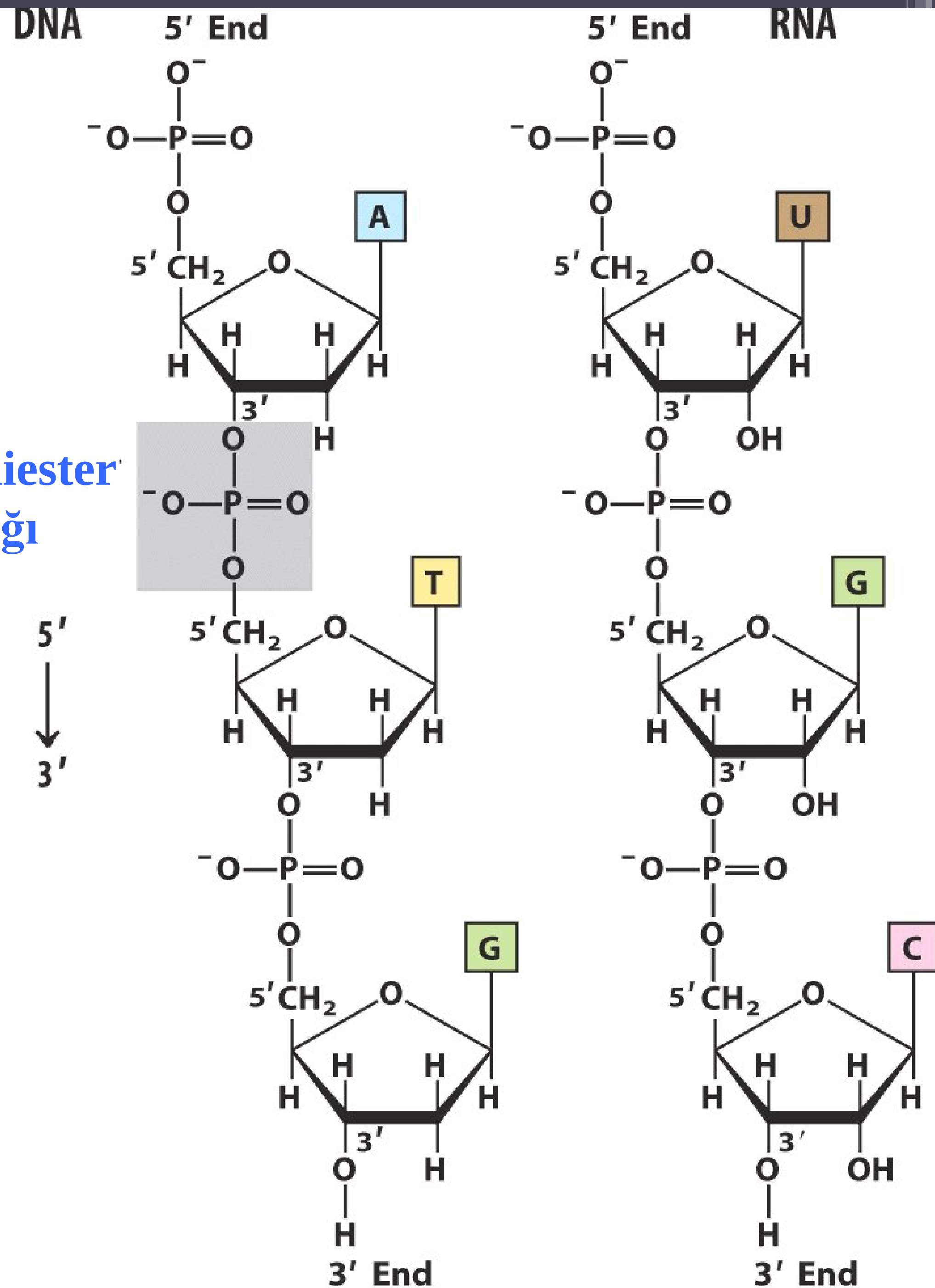


Nukleozid:	**Adenozin**	**Guanozin**	**Uridin**	**Sitidin**
Nukleotid:	**Adenilik asid**	**Guanilik asid**	**Uridilik asid**	**Sitidilik asid**
	Adenozin 5'-monofosfat (AMP)	**Guanozin 5'-monofosfat (GMP)**	**Uridin 5'-monofosfat (UMP)**	**Sitidin 5'-monofosfat (CMP)**

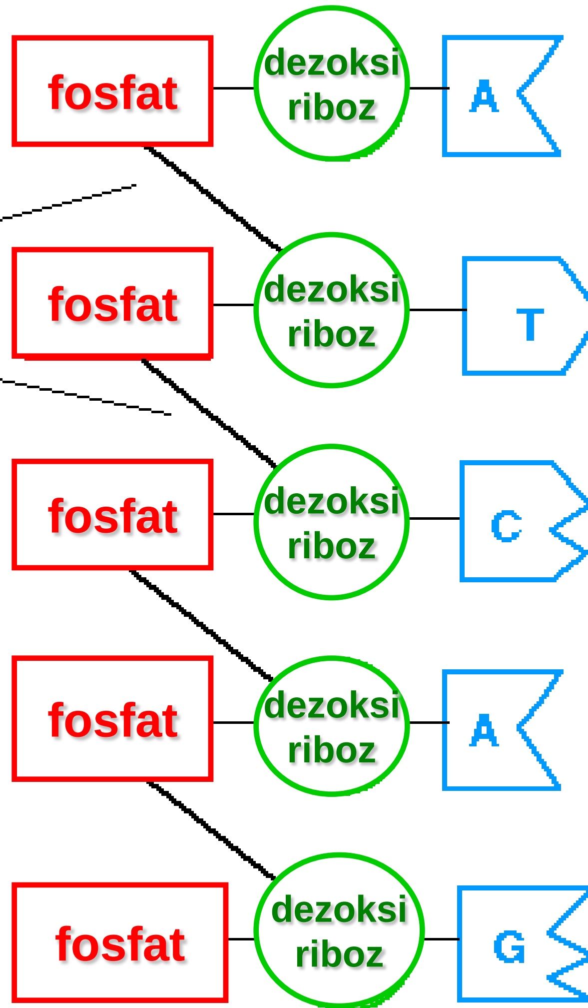
Nukleik asidlerin yapısı

Dezoksiribonukleidlerin veya ribonukleotidlerin DNA veya RNA yı teşkil etmek üzere polimerizasyonunda, bir nukleotiddeki pentozun C-3' atomundaki hidroksil grubu ile esterleşmiş olan fosforik asid diğer bir nukleotid molekülündeki pentozun C-5' atomundaki hidroksil grubu ile esterleşir. Bundan dolayı nukleotidlerarası bağlara ‘**fosfodiester bağları**’ adı verilir.

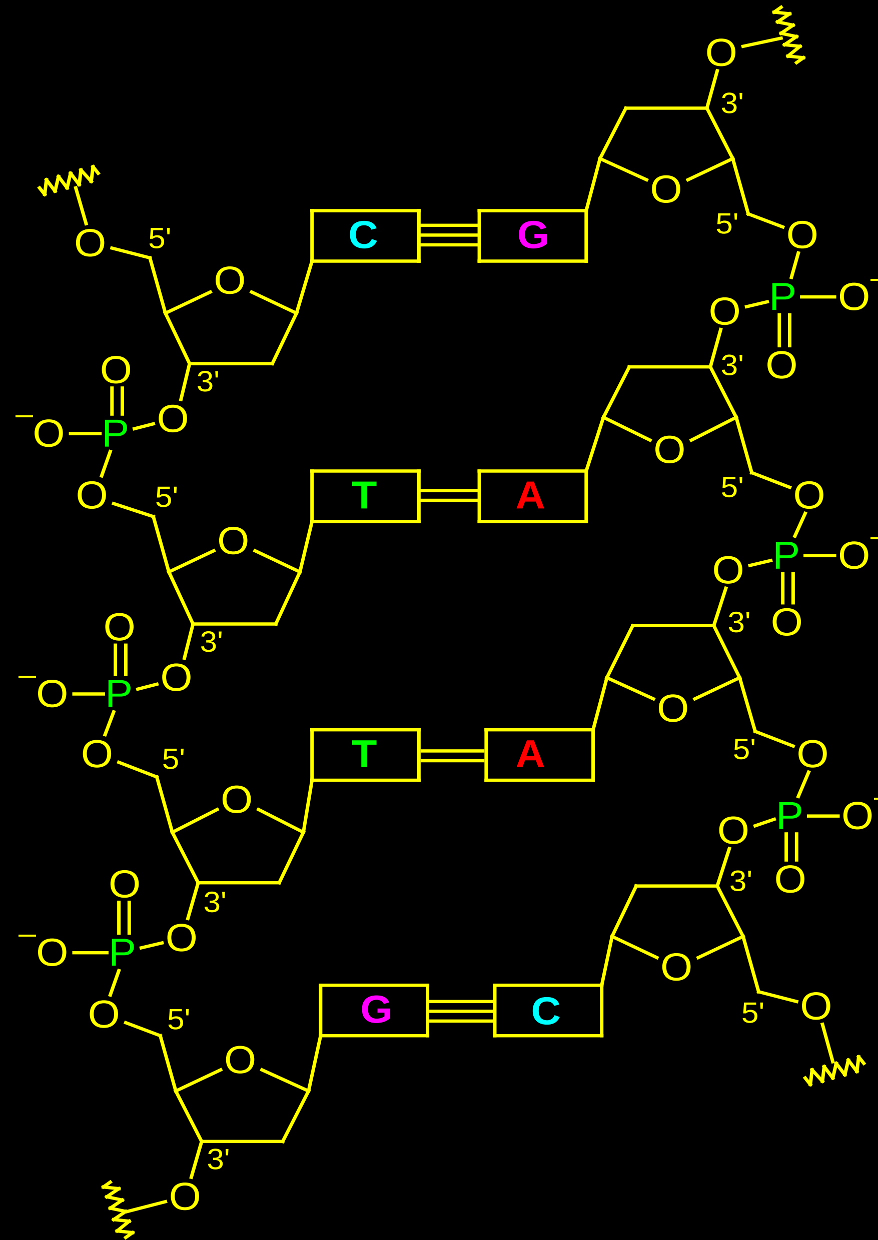
Fosfodiester bağı

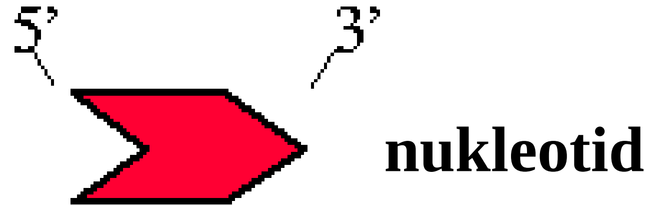


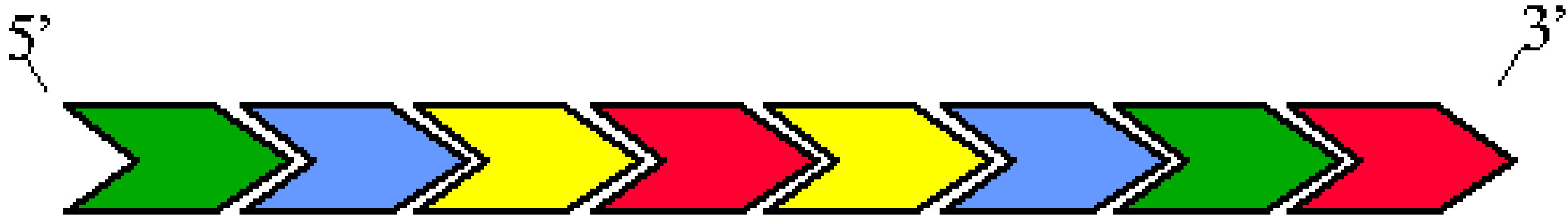
Fosfodiester bağı



DNA'nın yapısı ve fonksiyonu





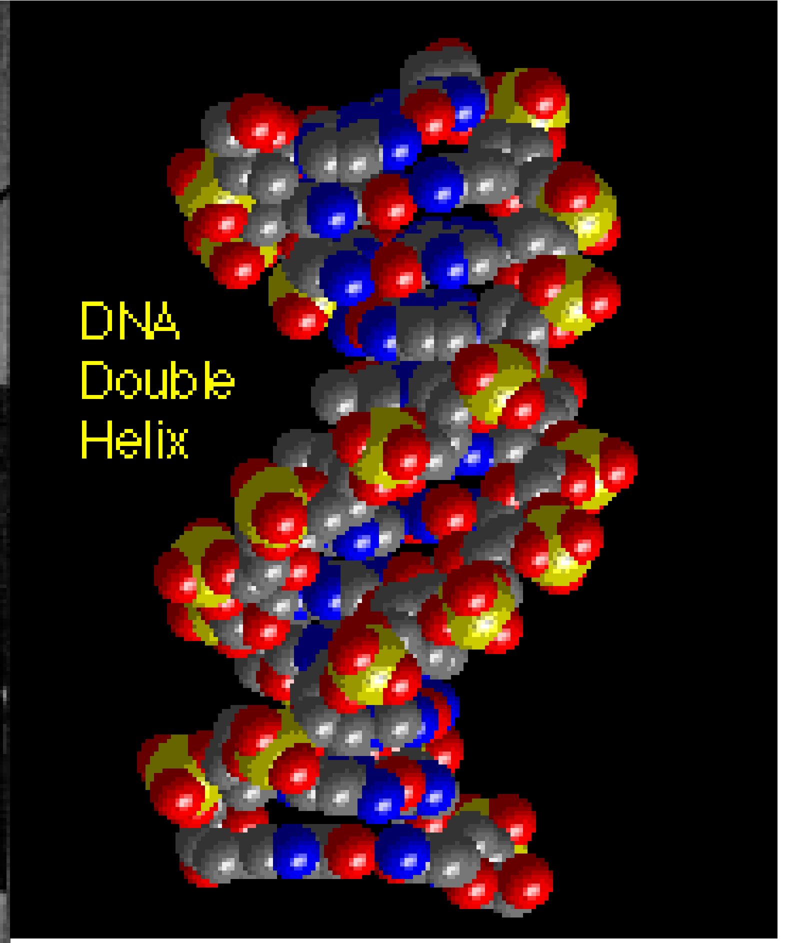


DNA'nın birincil yapısı - içerdiği dezoksiribonukleidlerin 3'$\rightarrow$5' yönünde fosfodiester bağlar ile bağlanmaları sonucunda oluşur.

dAGST

1950 yıllarında James Watson, Francis Crick ve Maurice Wilkins tarafından DNA yapısı için çift zincirli heliks şeklinde sekonder yapı modeli önerilmiştir.



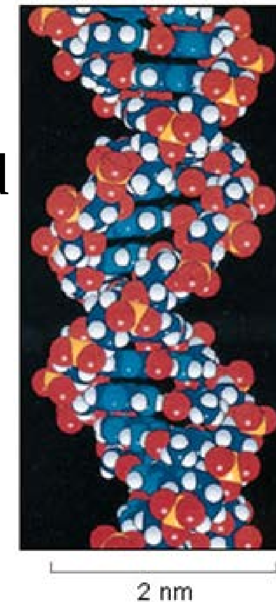


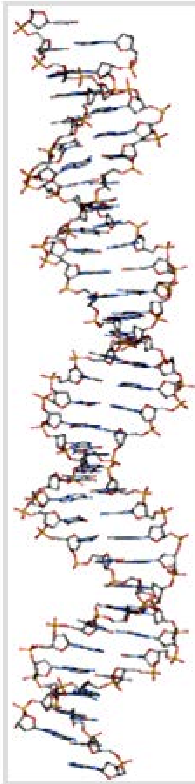
X-ışınları ile yapılan araştırmalar, hücre çekirdeğindeki DNA'nın muntazam bir helezon (sarmal) yapısında olduğunu göstermiştir.

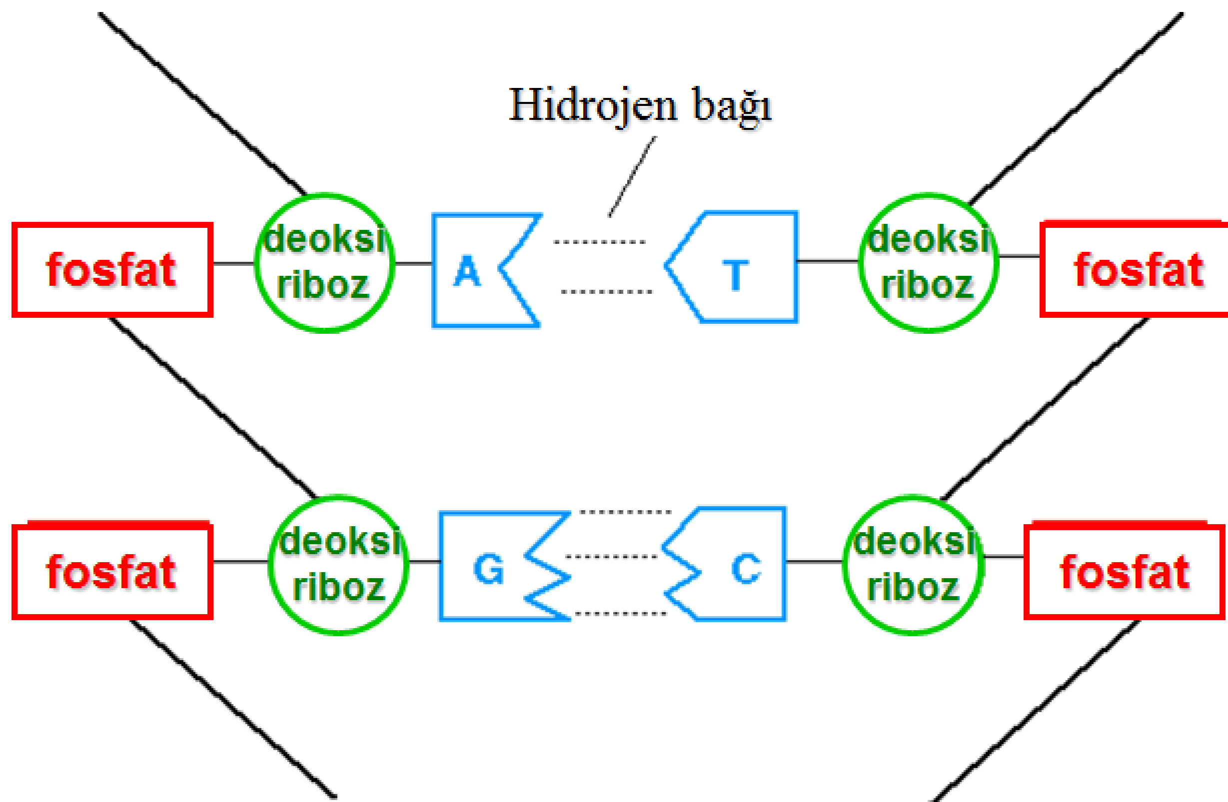
DNA molekülü pentoz fosfat zinciri dış tarafta ve purin, pirimidin bazları iç tarafta olmak üzere birbiri üzerine helezon şeklinde dolanmış iki polinukleotid zincirinden ibarettir.

Büyük ve küçük oluk DNA molekülünde baz eşleşmesi bozulmadan spesifik nukleotid dizilerini tanır ve bunlara bağlanır.

Bir polinukleotid zincirinin pirimidin bazı diğer polinukleotid zincirinin purin bazına hidrojen bağı ile bağlanır.

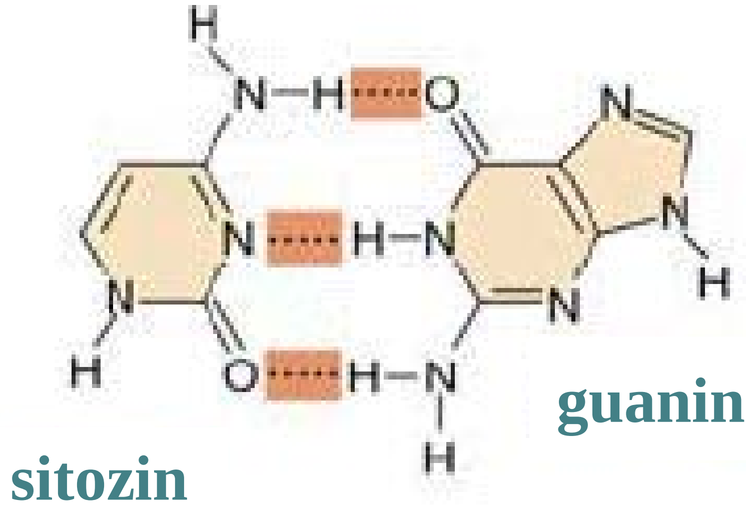




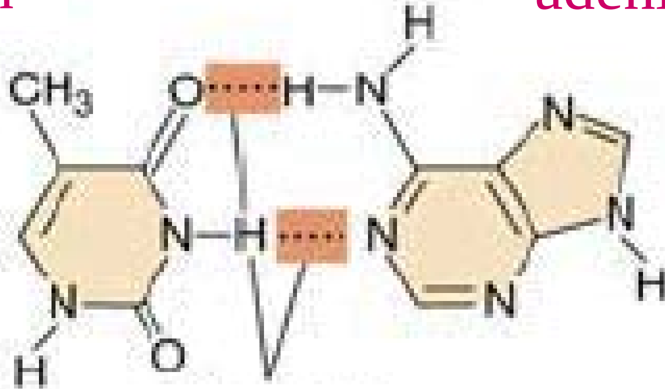

Hidrojen bağı
fosfat
deoksi riboz
A
T
deoksi riboz
fosfat
fosfat
deoksi riboz
G
C
deoksi riboz
fosfat

DNA

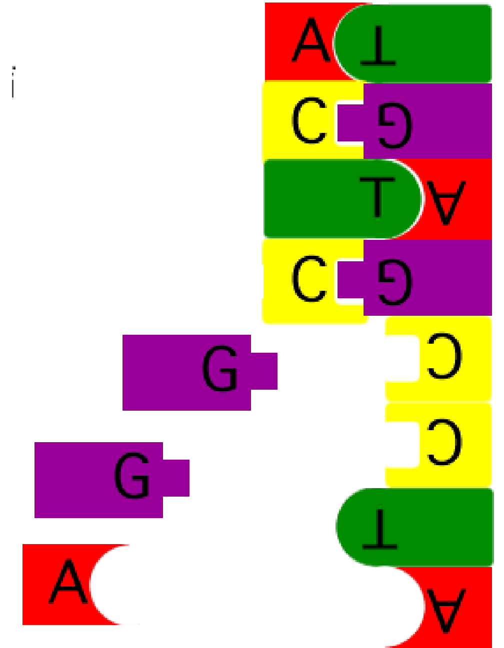
Bir polinukleotid zincirinin pirimidin bazı diğer polinukleotid zincirinin purin bazına hidrojen bağı ile bağlanır. DNA molekülünde adenin (A) mol sayısının timin (T) mol sayısına oranı 1:1 ve guanin (G) mol sayısının sitozin (C) mol sayısına oranı da 1:1 bulunmuştur.



timin adenin

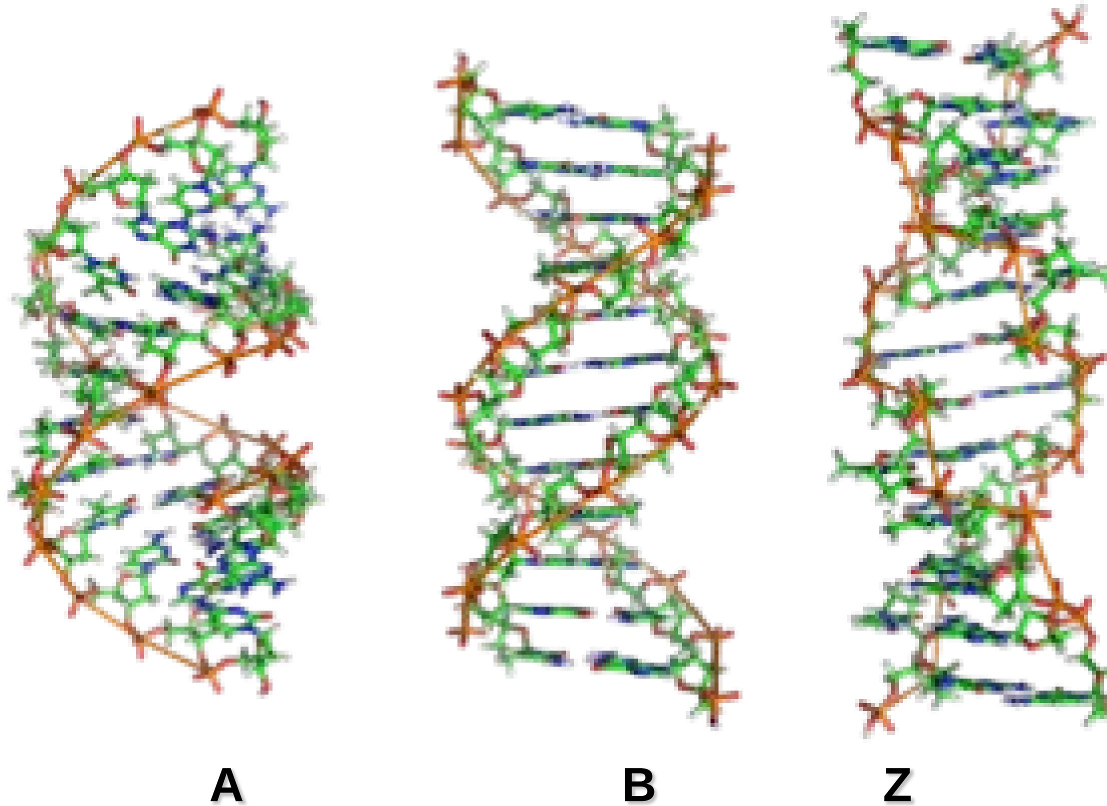


Hidrojen bağları



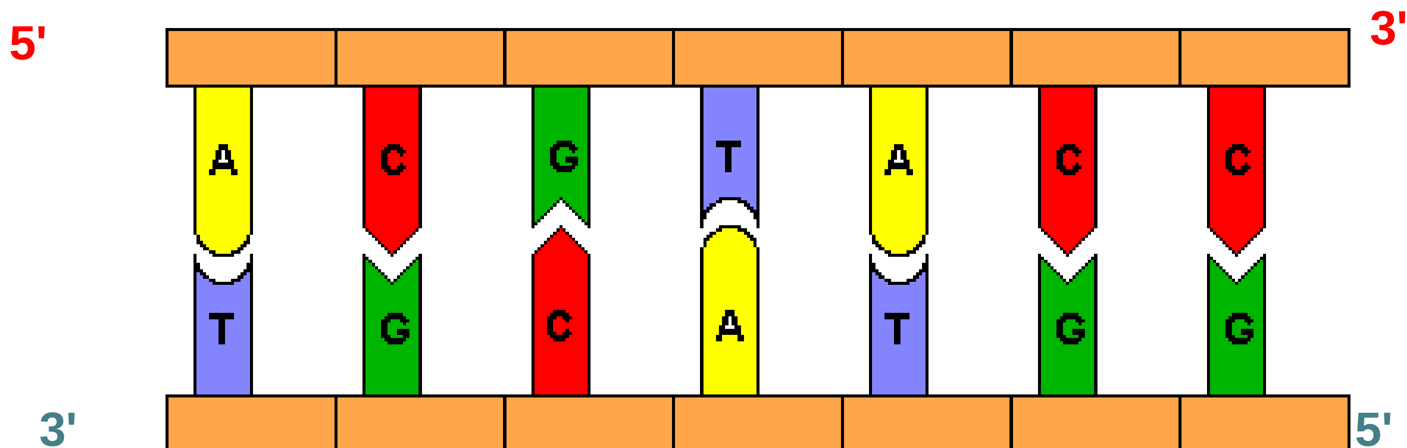
- DNA nın birincil yapısı içerdiği dezoksiribonukleotidlerin linear dizilimidir.
- Uygun purin ve pirimidin bazların hidrojen bağlarla birbirine bağlanarak eşleşmeleri sonucunda sekonder yapı meydana gelir.
- Polinukleotid zincirlerinin moleküllerarası bağlanmaları sonucunda üçüncül yapı meydana gelir.
- DNA muhtelif çift sarmal yapılarda mevcuttur. Bu güne kadar 6 form (A'dan E'ye ve Z) tanımlanmıştır. Bu formlar
  - Sarmalın her bir dönüşünü işgal eden baz çiftlerinin sayısı
  - Her baz çifti arasındaki açı
  - Molekülün sarmal çapı
  - Çift sarmalın dolandığı taraf (sağ ve sol) ile birbirinden ayırt edilirler.

- Fizyolojik koşullarda DNA’nın egemen formu B formudur. Sağ dönüşlü bir sarmaldır. Tek bir dönüşte 10,5 baz çifti yer alır, her baz çifti arsındaki eğim 0.34 nm. Sarmal çapı – 1.9 nm



DNA’da iki polinukleotid zinciri birbirinin tamamlayıcısı olup bir zincirdeki purin ve pirimidin bazlarının diziliş sırası diğer zincirdeki bazların diziliş sırasını saptar. Çift sarmal şeklindeki molekülün iki zinciri antiparaleldir, yani biri 5'den 3' yönüne doğru, diğeri ise 3'den 5' yönüne doğru gider. 5' ucuna karşılık 3' gelir. Diziler 5' ucundan başlanarak okunur.

Bu buluş James Watson, Francis Crick ve Maurice Wilkins adlı araştırıcılara 1962 yılı Nobel ödülünü kazandırmıştır.

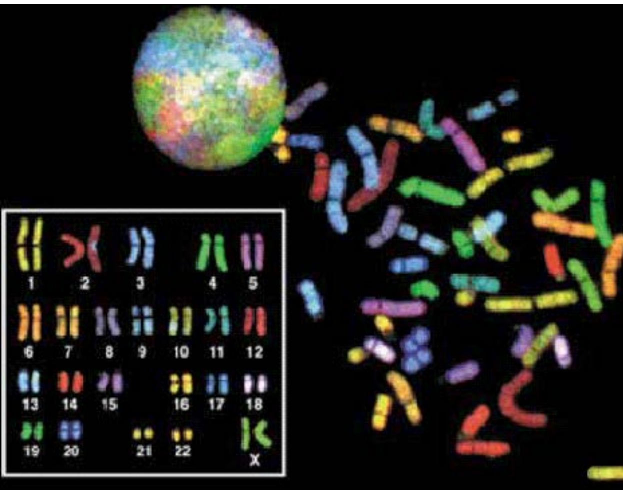




Ökaryotik DNA organizasyonu

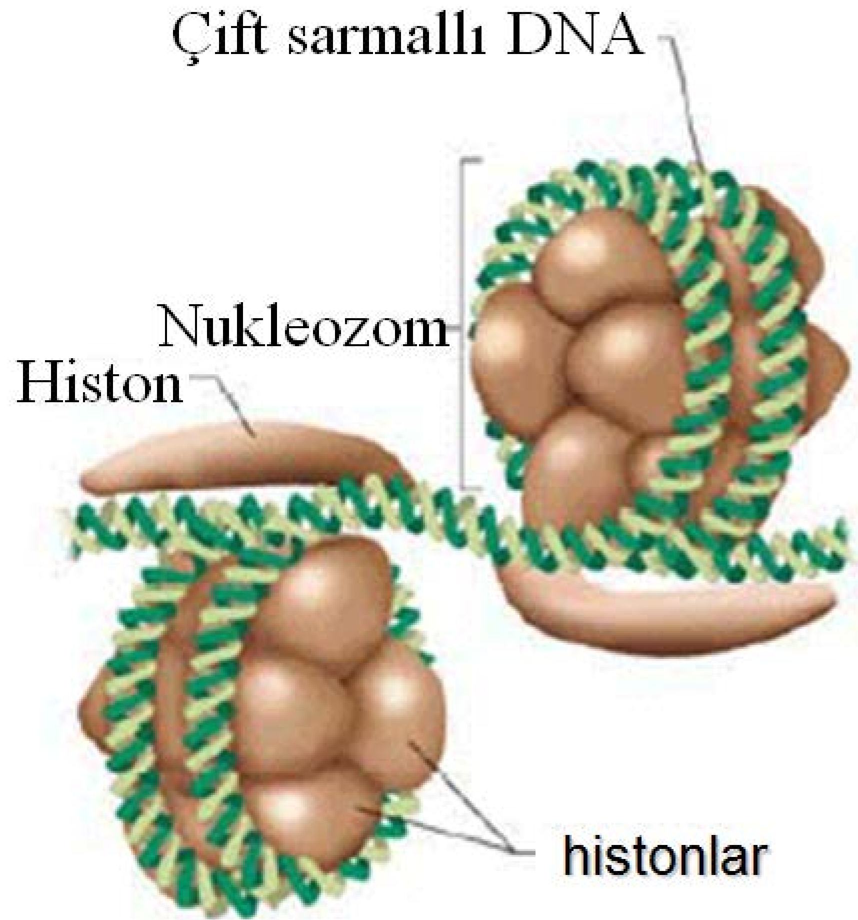


Diploid (2n) bir insan hücresinde herbiri tek molekül DNA içeren 46 kromozom 23 çift halinde bulunmaktadır.

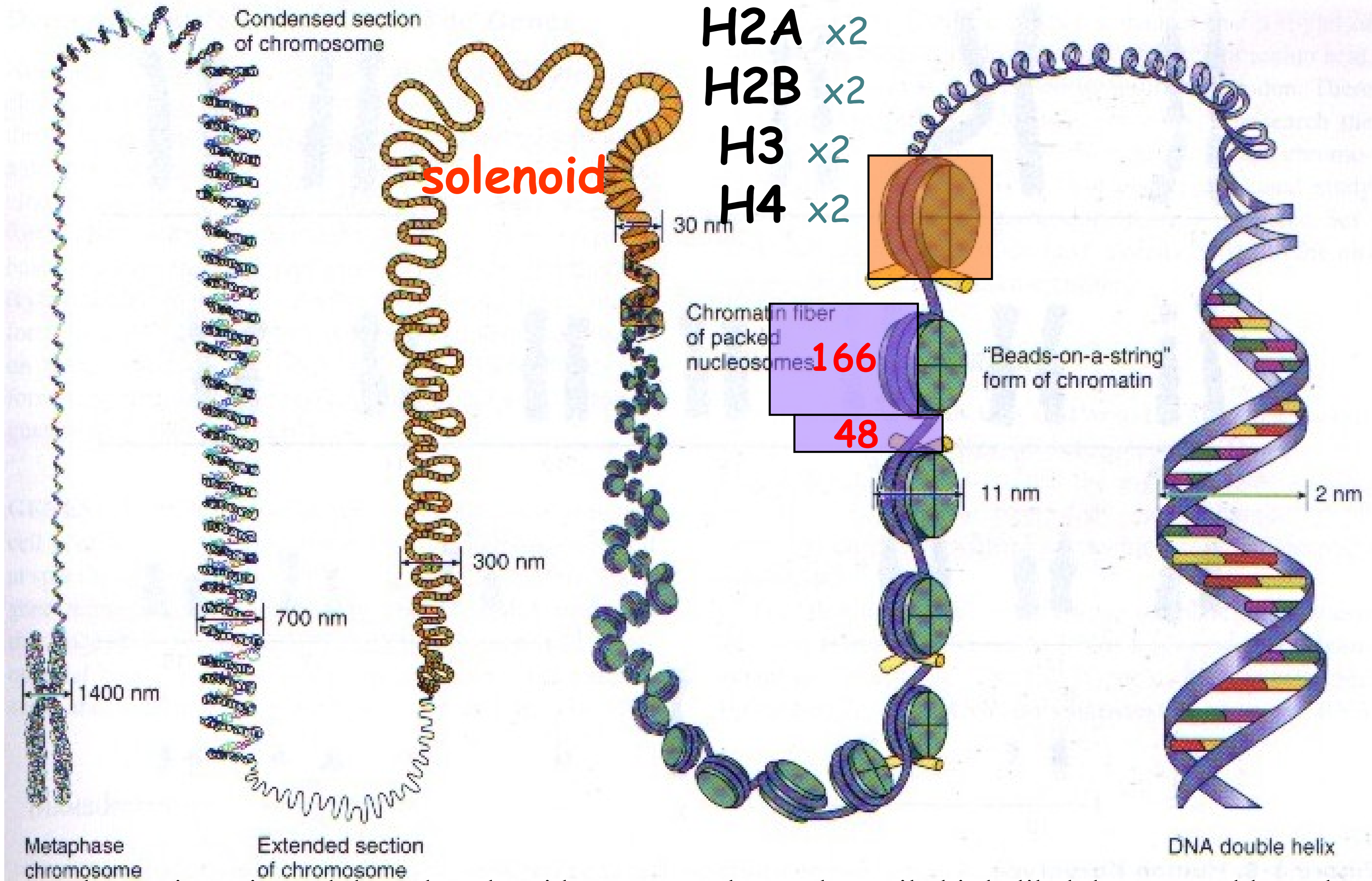


Kromozom yapısında yer alan DNA, histonlar ve diğer proteinler ile sıkıca bağlanarak şerit üzerinde boncuk taneleri görünümüde nukleozom birimleri oluşturmaktadır.

Bir kromozom binlerce gen içerir. Bütün kromozomlardaki genlerin toplamına genom adı verilir.

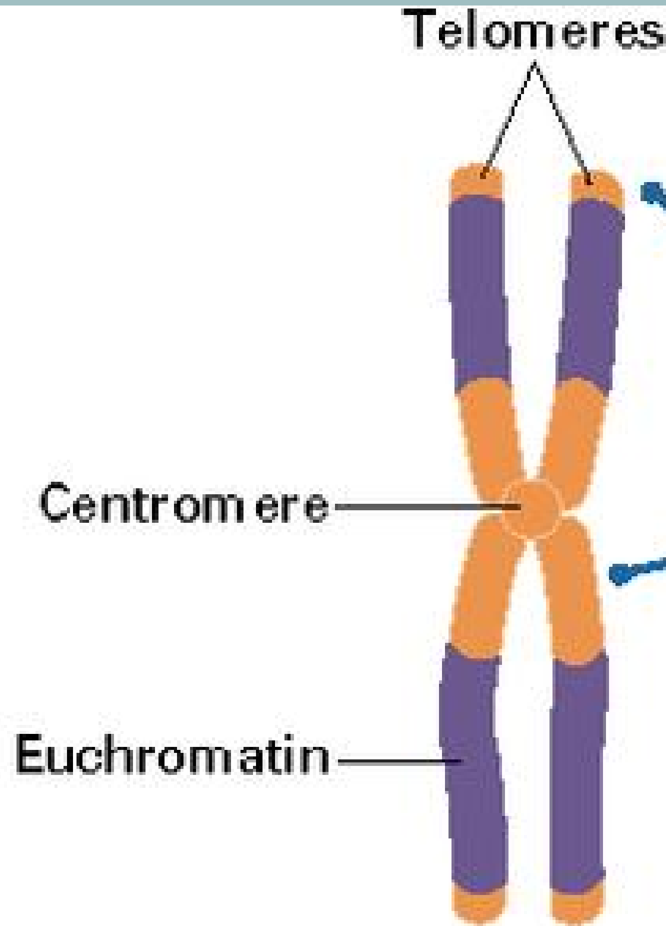


KROMOZOM/KROMATİN/NUKLEOZOM



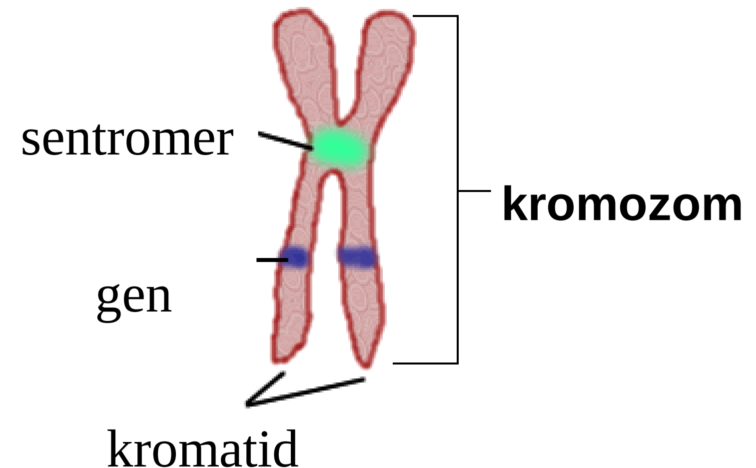
Histon oktameri üzerine sol dönüşlü solenoid süpersarmalın sarılması ile bir helikal dönüşü uzaklaştırılır ve negatif super helezonların oluşmasına neden olur. Linker DNA pozitif plektonemik yapısındadır

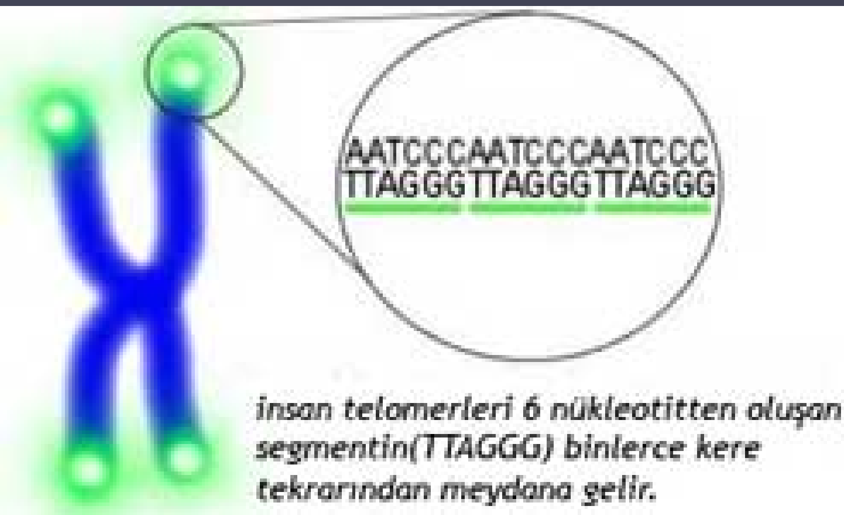
Telomer, ökaryotik doğrusal kromozomların uçlarında bulunan,
herhangi bir gen kodlamayan, özelleşmiş heterokromatin yapılarıdır.



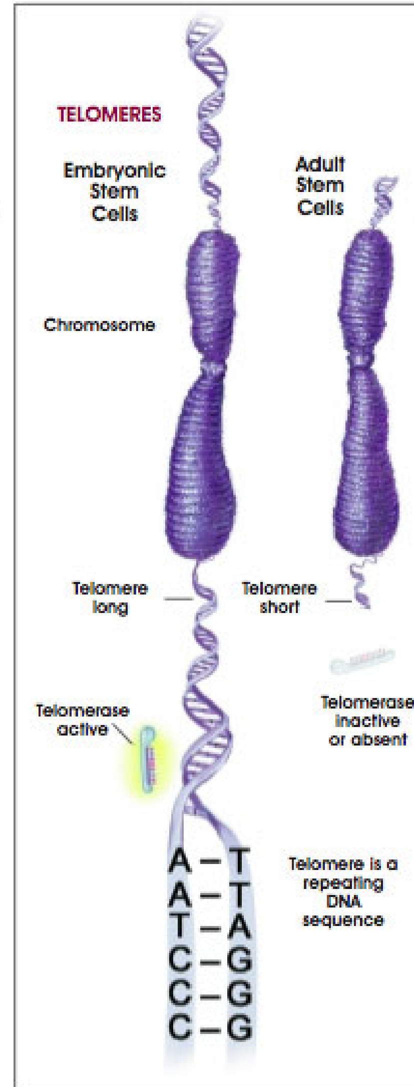
Transkripsiyonel olarak inaktif

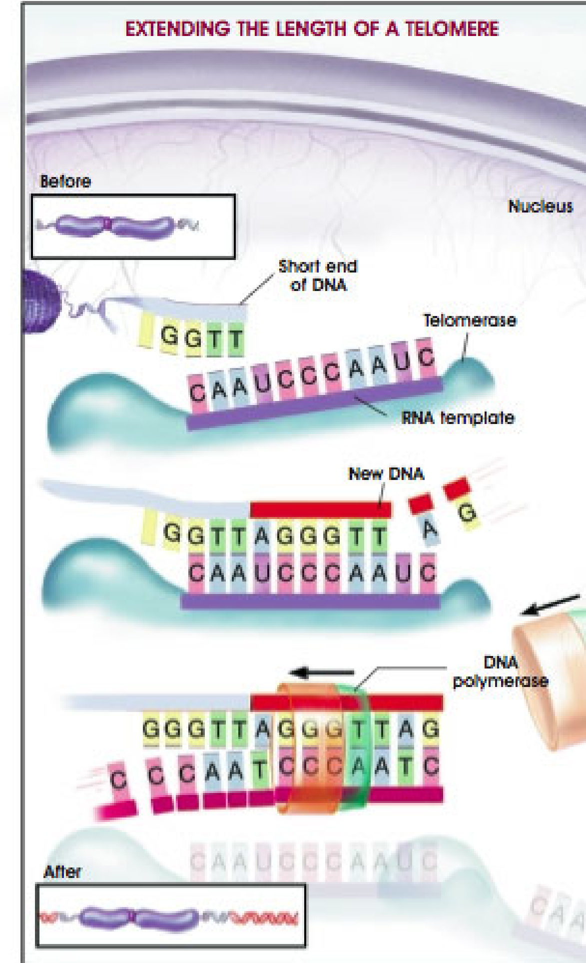
Transkripsiyonel olarak aktif





Telomerlerin varlığı, kromozomların uçlarının rastgele çift zincir DNA kırılmalarından koruyarak istenmeyen kromozom uçlarının birleşmesinden ya da kromozomu nükleolitik parçalanmadan korur. Kromozomların bu fiziksel korunmasının dışında, ökaryotik telomerleri, kromatin organizasyonu, kromozomların replikasyonu ve hücre çoğalması gibi önemli hücresel görevleri vardır[1].





RNA'nın yapısı

Ribonukleik asid, 3'→5' fosfodiester bağları ile birbirine bağlı purin ve pirimidin ribonukleotidlerinin bir polimeridir.

- RNA'nın özellikleri

❖ **Adenin, Urasil**, **Guanin, Sitozin** ribonukleotidleri içerir.

❖ **Adenin-Urasil**, **Guanin-Sitozin** baz çiftleri mevcuttur, fakat guanin mol sayısının sitozin mol sayısına veya adenin mol sayısının urasil mol sayısına eşit olması şart değil.

❖ RNA molekülü sınırlı bazı yerlerinde hidrojen bağları ile bağlı bükülmüş ve helezonlaşmış kısımlar ihtiva eden bir tek polinukleotid zincirinden ibarettir.

❖ Şeker kısmı **ribozdur**

❖ DNA'deki genetik bilginin protein yapısı şekline dönüştürülmesinde rol oynar

RNA türleri

❑ Transfer RNA (tRNA)

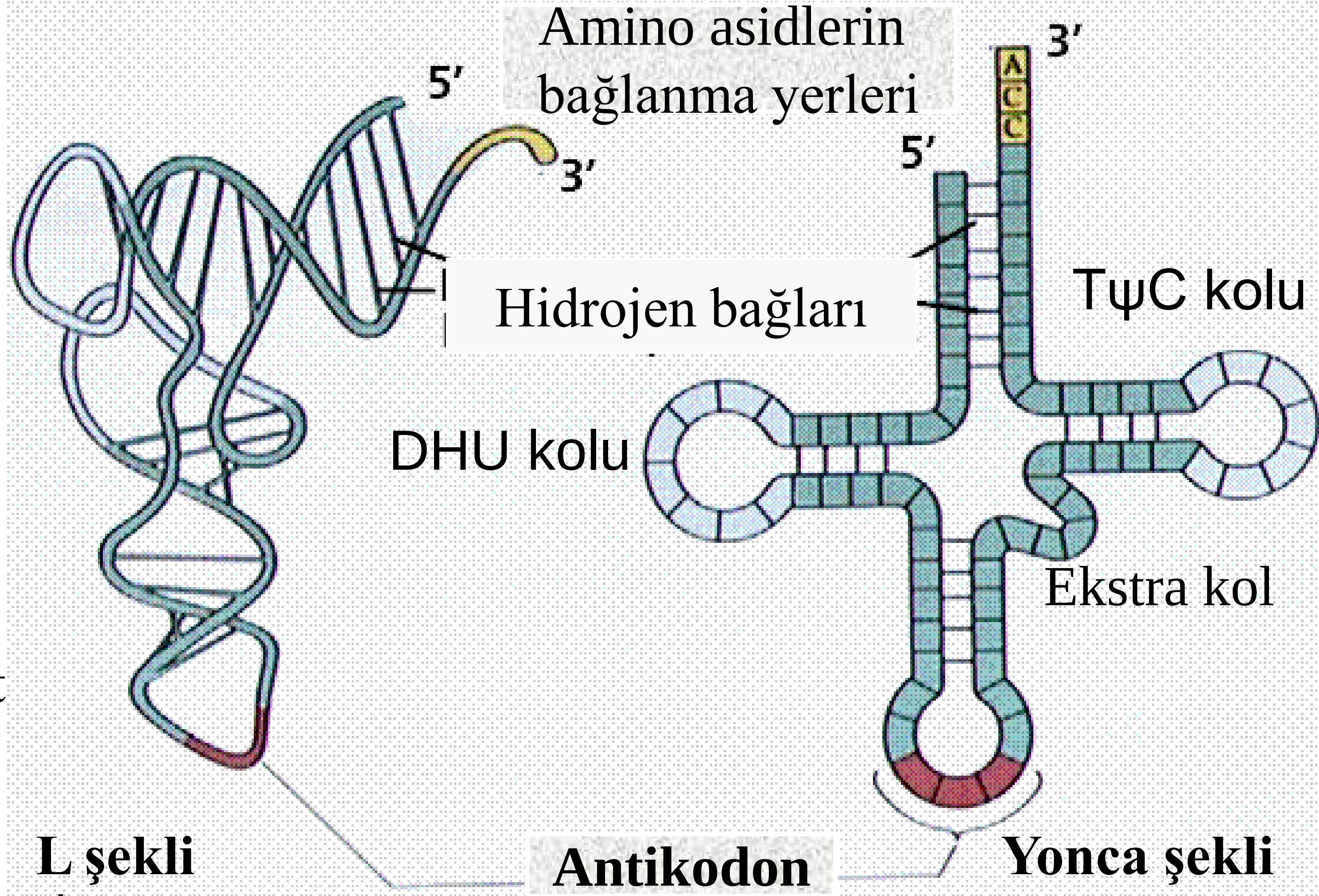
- MW 25 000 - 30 000
- ~75 nukleotidden oluşur
- Protein biosentezinde aktive edilmiş amino asid taşıyıcı görevi vardır.
- Her bir hücrede tRNA moleküllerinin en az 20 türü mevcuttur. Protein bileşimine giren 20 standart ve farklı amino asidden her biri için bir veya birden fazla özgül tRNA molekülü vardır.
- tRNA'nın **birincil yapısı** - belirli ribonukleotidlerin, belirli bir diziliş sırasına göre fosfodiester bağları ile birleşmelerinden meydana gelir. Polinukleotid zincirinin sınırlı bazı yerlerinde bükülmesi ve helezonlaşması ile üç yapraklı yöncayı andıran **ikincil yapı** meydana gelir. tRNA'ların tersiyer yapısı (yani uzaysal yapı veya konformasyonun) **L** şeklindedir.

Üç yapraklı yonca modelinde 4 tane ana kol bulunur

- TψC kolu (ribotimidin-psödouridin içermektedir)
- DHU kolu (dihidrouridin içermektedir) – 5' ucuna yakındır
- Antikodon kolu – mRNA'daki kodonu tanır
- Akseptör kol
- Ekstra kol

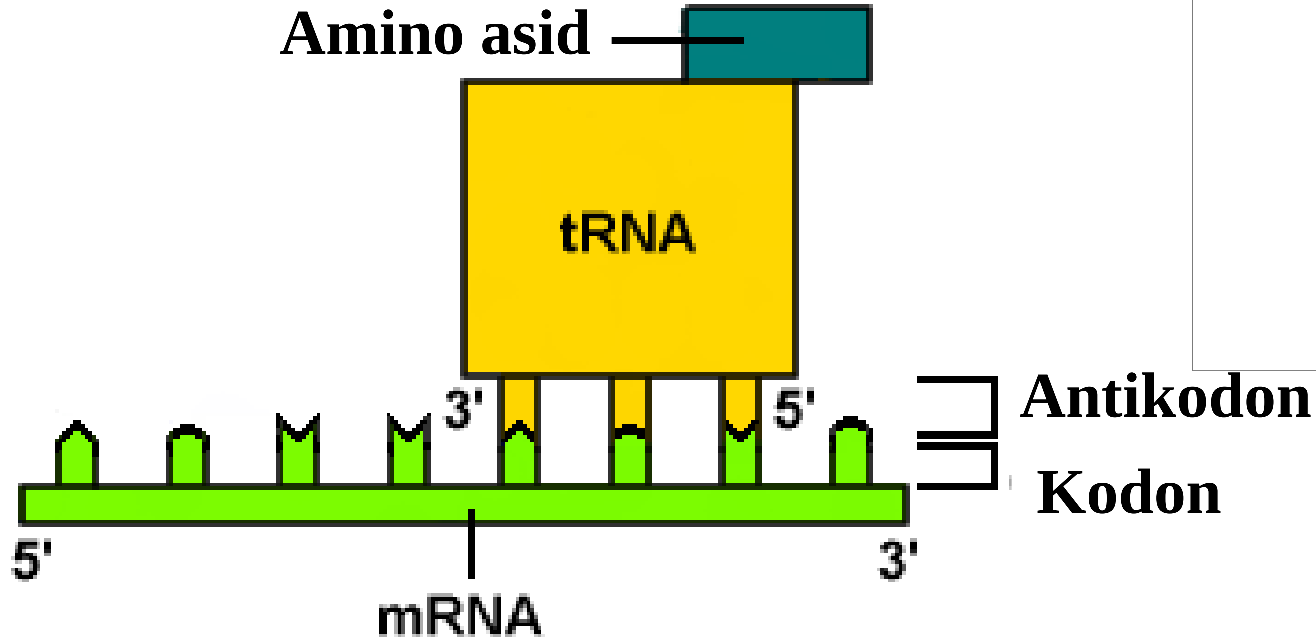
Akseptör (alıcı) kol

L-şeklinde, üç yapraklı yonca modelinde birbirinden ayrı duran TψC ve DHU kolları üst üste bulunur

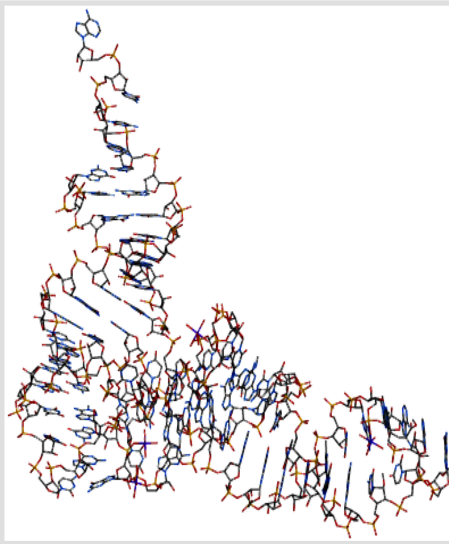


tRNA'nın görevleri

1. *Aminoaçil tRNA sentetazın* katalitik etkisiyle aktif amino asidi kendine bağlar
2. Aktif amino asidi taşır (sitoplazma→ribozom)
3. mRNA kalıbı üzerinde kendi antikodonun verdiği direktife göre, amino asidin sırasını almasına yardım eder



Fenilalanin tRNA



$$OCCHCH_2C_6H_5$$ (with $C=O$ and $^{+}NH_3$)

antikodon

AAA

UUU

kodon

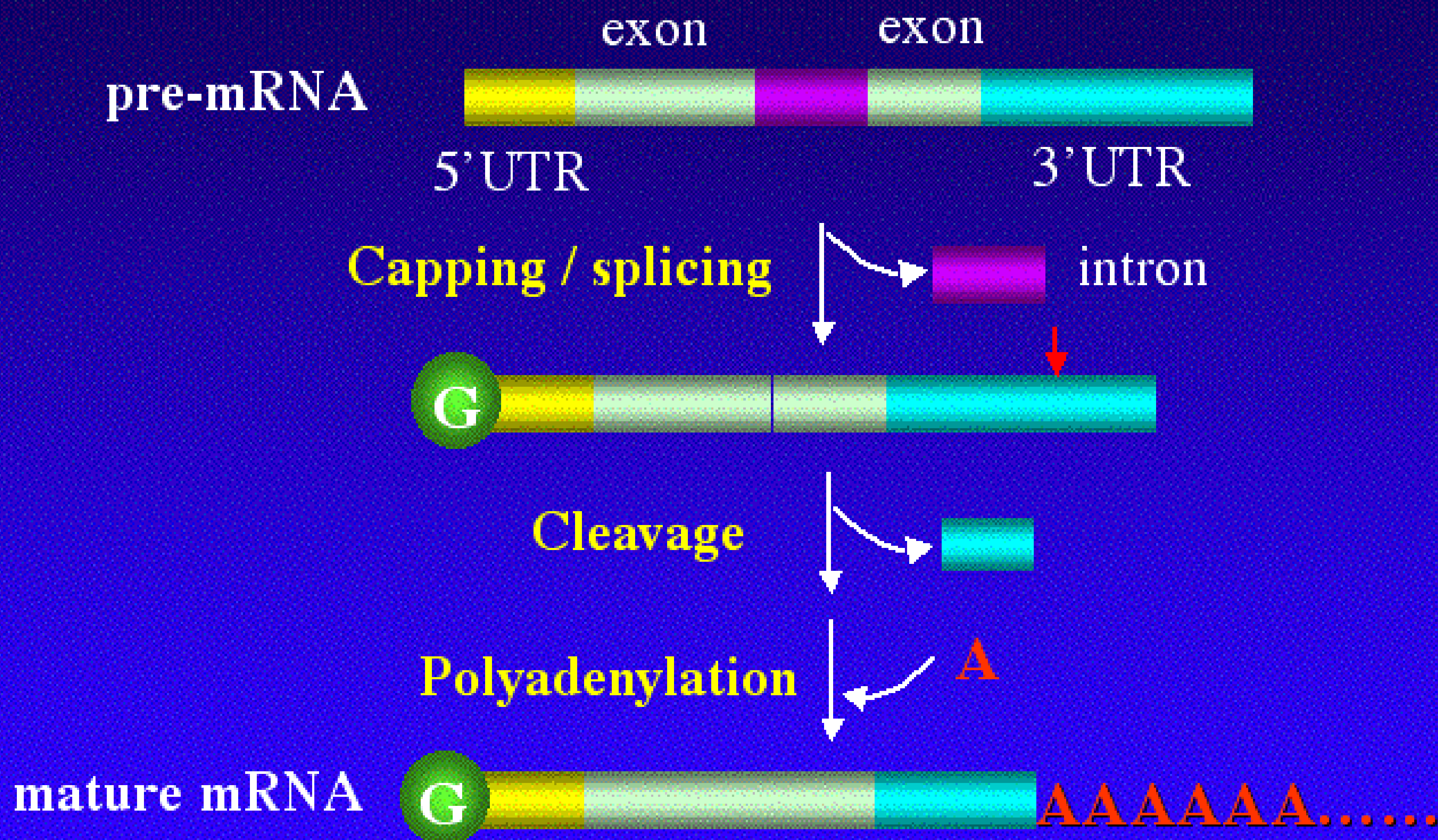
Messenger (haberci) RNA (mRNA)

- mRNA sentez edilecek özel proteinin polipeptid zincirindeki amino asidlerinin diziliş sırasına ait genetik bilgiyi verir.
- Protein biosentezinde kalıp görevini gördüğü için kalıp (template) RNA adını alır.
- Yapısındaki her üç azotlu baza kodon adı verilen ökaryotik mRNA çekirdekte yapılmaktadır.
- DNA molekülünün çift zincirli sarmallardan birinin kopyası olarak meydana gelen mRNA molekülünün 5' ucunda, okuma sonrası (posttranskripsiyonel) modifikasyonda önemli olan 7-metil guanozin trifosfat başlık (cap) kısmı bulunmaktadır
- 3' ucuna ise çok sayıda poli A şeklinde adenin nukleotid dizisi yer almaktadır.

Başlık kısmının fonksiyonu – ribozomun 40s altbirimini tanımak ve buraya uygun bir şekilde bağlanmayı sağlamaktır.

Poli (A) kuyruğun fonksiyonu – 3'-ekzonukleazların saldırılarını engelleyerek intrasellüler stabilitenin devamlılığını sağlamaktır.

Eukaryotic pre-mRNA processing




Başlık
5'UTR
Başlama
Kodlayıcı dizi
Bitiş
3'UTR
PoliA
kuyruğu
5'
3'

Ribozomal RNA (rRNA)

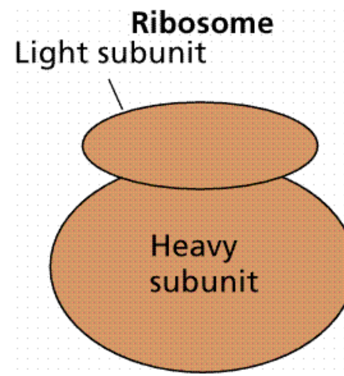
Ribozomların % 60-65'i rRNA lar, % 35-40'ı ise proteinlerden oluşur. Proteinlerin biosentezi sırasında birçok ribozom ayni bir mRNA ya bağlanmış olurlar ve elektron mikroskobunda **inci dizisi** gibi görünürler. Bunlara **polizom** denir.

Ribozomlar ültrasantrifüjde 70s (prokaryot hücresinin) ve 80s (ökaryot hücresinin) lik bir sedimentasyon sabitesi gösterirler (Svedberg ünitesi).

80s Ribozomu 60s ve 40s alt biriminden oluşur (ökaryot hücreler).

60s ribozom büyük alt birimi = 28s rRNA+5,8s rRNA+5s rRNA+50'den fazla polipeptid zinciri

40s ribozom küçük alt birimi = 18s rRNA+30 polipeptid zinciri

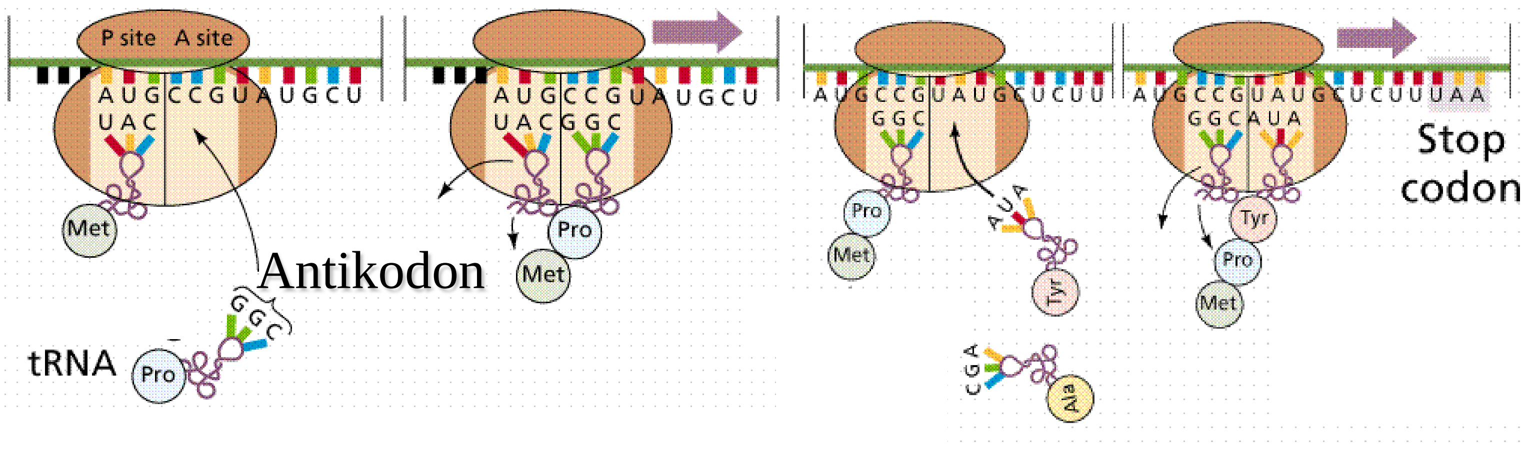


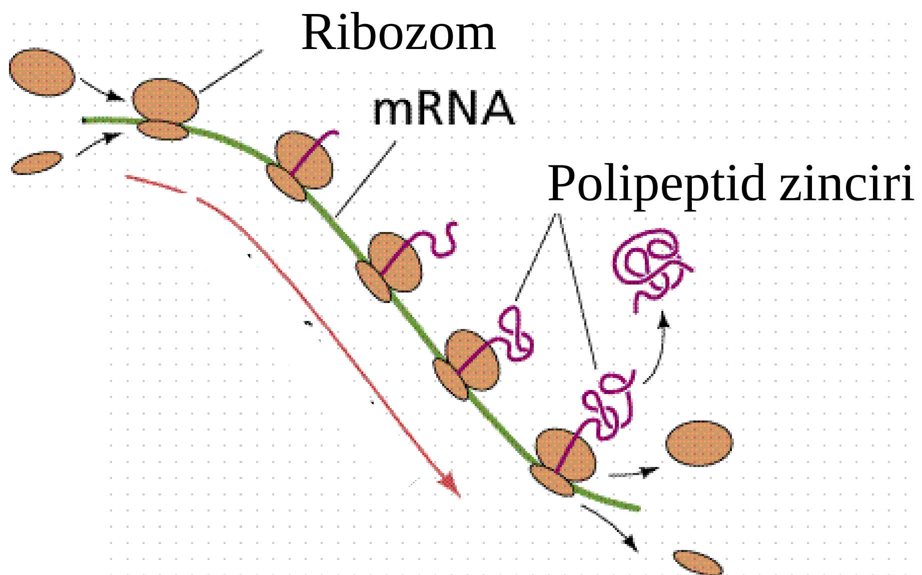
70s Ribozomu 50s ve 30s alt biriminden oluşur (ökaryot hücreler).

50s ribozom büyük alt birimi = 23s rRNA+5s rRNA+ 34 protein

30s ribozom küçük alt birimi = 16s rRNA+21 polipeptid zinciri

70 s = 23s rRNA+5s rRNA + 16s rRNA+55 protein


P site
A site
AUGCCGUAUGCU
UAC
Met
Antikodon
GGC
tRNA
Pro
UACGGC
Met
GGC
AUA
Tyr
CGA
Ala
AUGCCGUAUGCUCUUUAA
GGCAUA
Stop codon

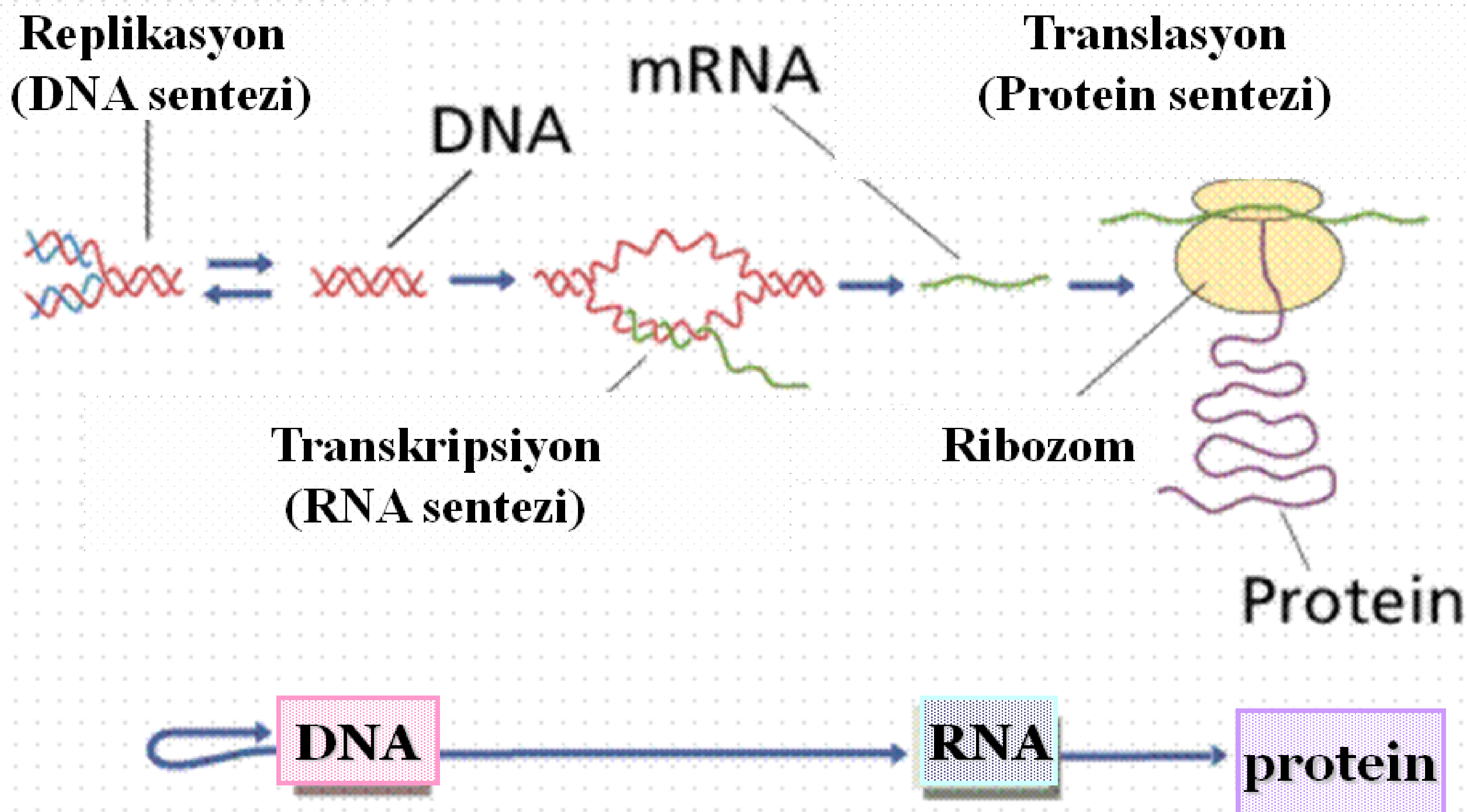

Ribozom
mRNA
Polipeptid zinciri

REPLİKASYON

DNA biosentezine replikasyon (eşleme) denir.

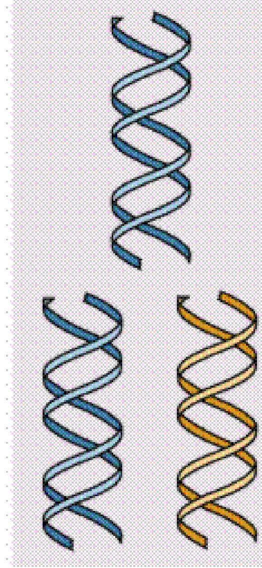
Genetik bilginin DNA’den RNA’e geçmesine transkripsiyon adı verilir. Bu bilgi verme mRNA’nın biosentezi şeklinde olur.

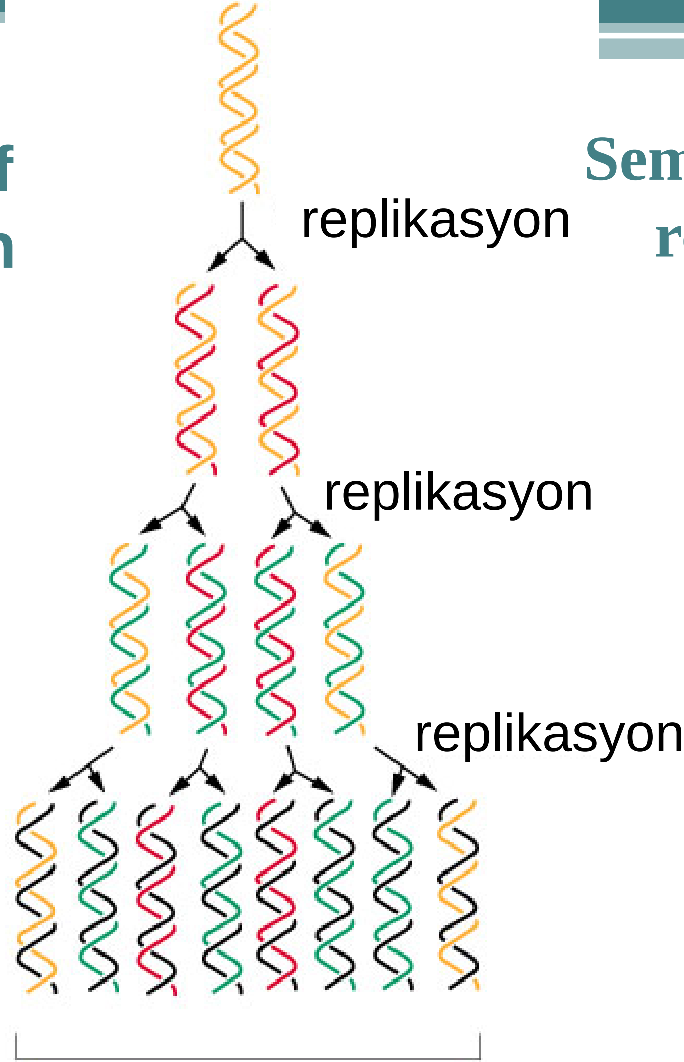
Genetik bilginin polipeptid sentezi sonucunda protein olarak ortaya çıkmasına translasyon adı verilir.



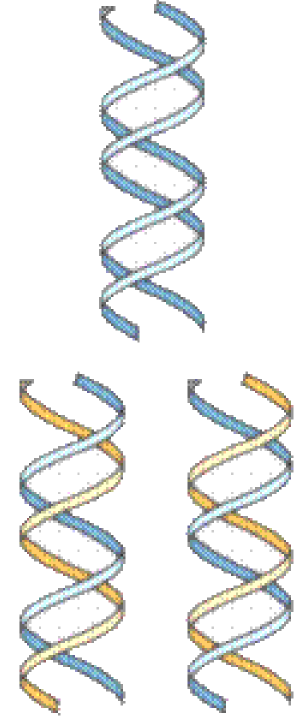
DNA sentezi (replikasyon) - Semikonservatif yani (yarı koruyucu) mekanizması. **İki zincir birbirinden ayrıldığında, herbiri yeni tamamlayıcı zincir için kalıp görevi yapmaktadır..**

Konservatif replikasyon





Semikonservatif replikasyon



Ana zincirin birbirini tamamlayan iki zincire ayrılarak, herbir zincirin, yeni çiftin bir zincirini oluşturması **semikonservatif yani (yarı kalıcı)** replikasyon olarak tanımlanmaktadır

❑ DNA sentezinin aşamaları

Replikasyon başlama, uzama ve sonlanma basamaklarını kapsar.

Replikasyondan sorumlu olan temel enzim DNA polimeraz’dır.

Ana nukleotid dizisini sadece 3'→5' yönünde okuyabilen DNA polimeraz, yeni DNA zincirini 5'→3' yönünde sentezlemektedir.

DNA replikasyonunun temel mekanizması

1. Replikasyon başlangıç noktalarının tayini
2. DNA çift sarmalının çözünmesi
3. Replikasyon çatalının oluşması

Replikasyon başlangıç noktalarının tayini:

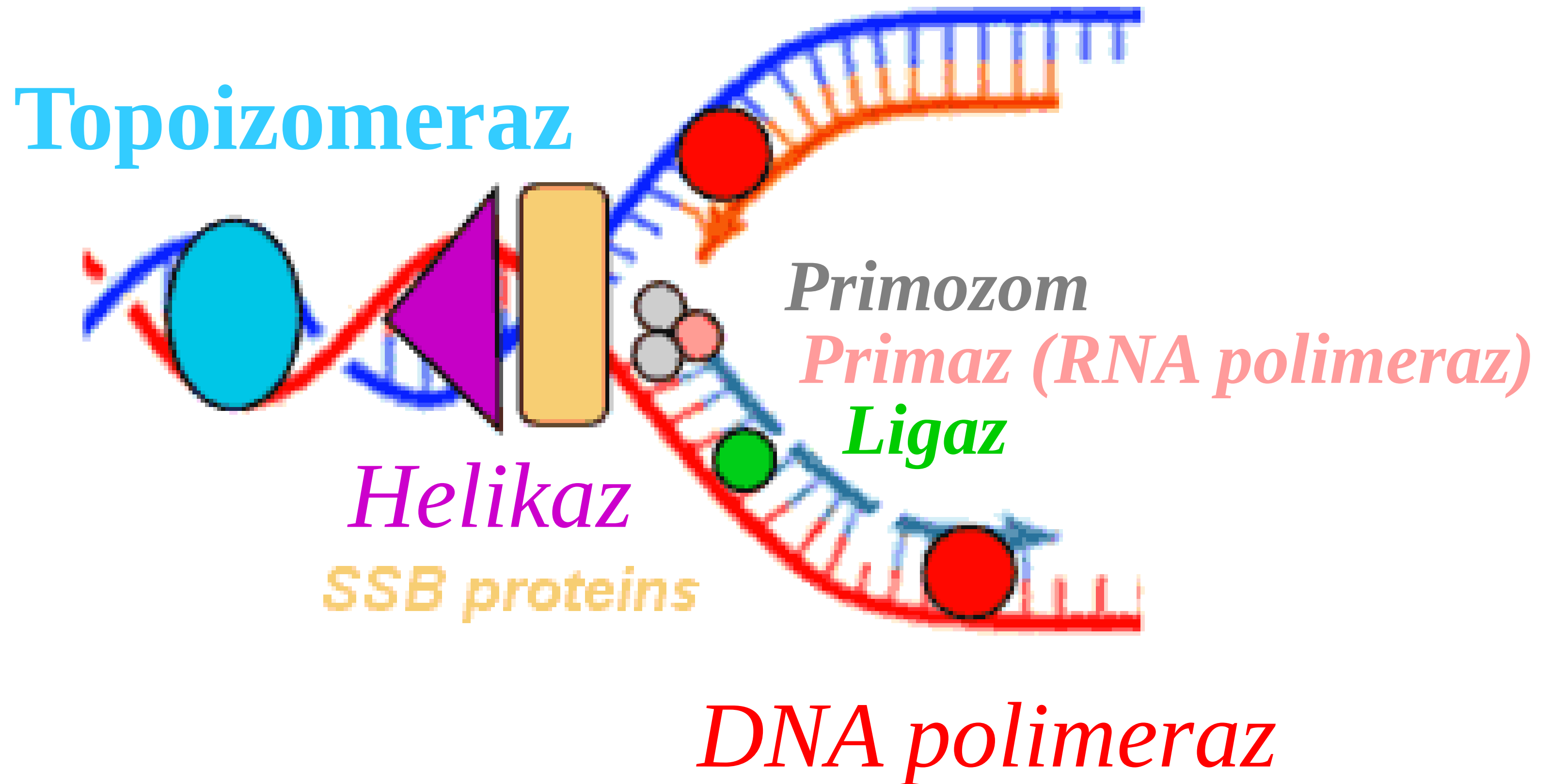
•Replikasyonun gerçekleştiği genom birimine Replikon denir.

•Her replikonda bir başlangıç ve bir bitiş noktası vardır.

•Prokaryotlarda çembersel DNA da bir başlangıç ve bir bitiş noktası,

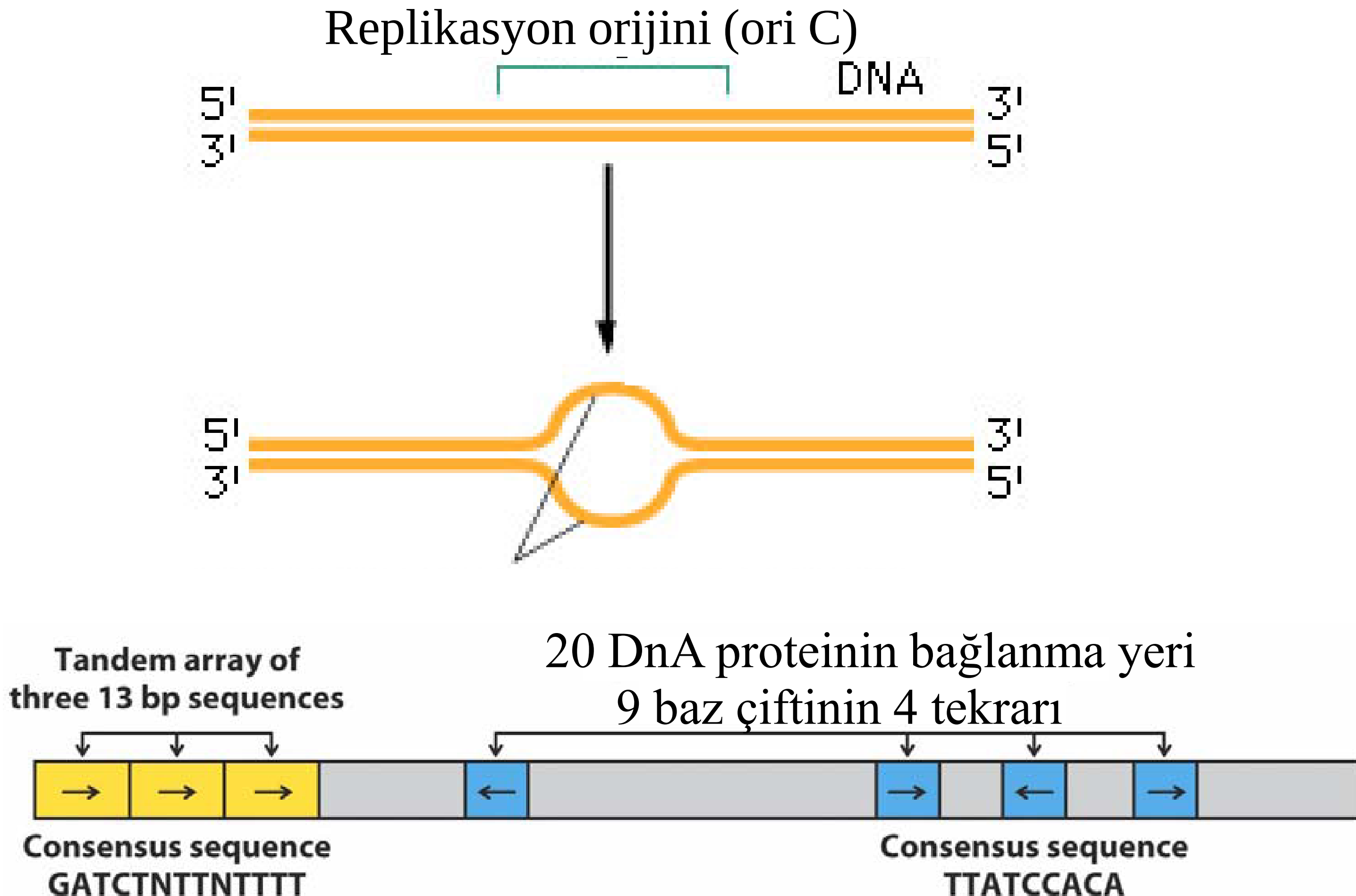
•Ökaryotik hücrede ise çok sayıda başlangıç ve bitiş noktaları vardır.

Replizom


Topoizomeraz
Primozom
Primaz (RNA polimeraz)
Ligaz
Helikaz
SSB proteins
DNA polimeraz

➢ Başlama

Replikasyon çift sarmalın belli bir noktada açılması ile başlar. Bu noktaya origin adı verilir ve 245 baz çifti içermektedir.



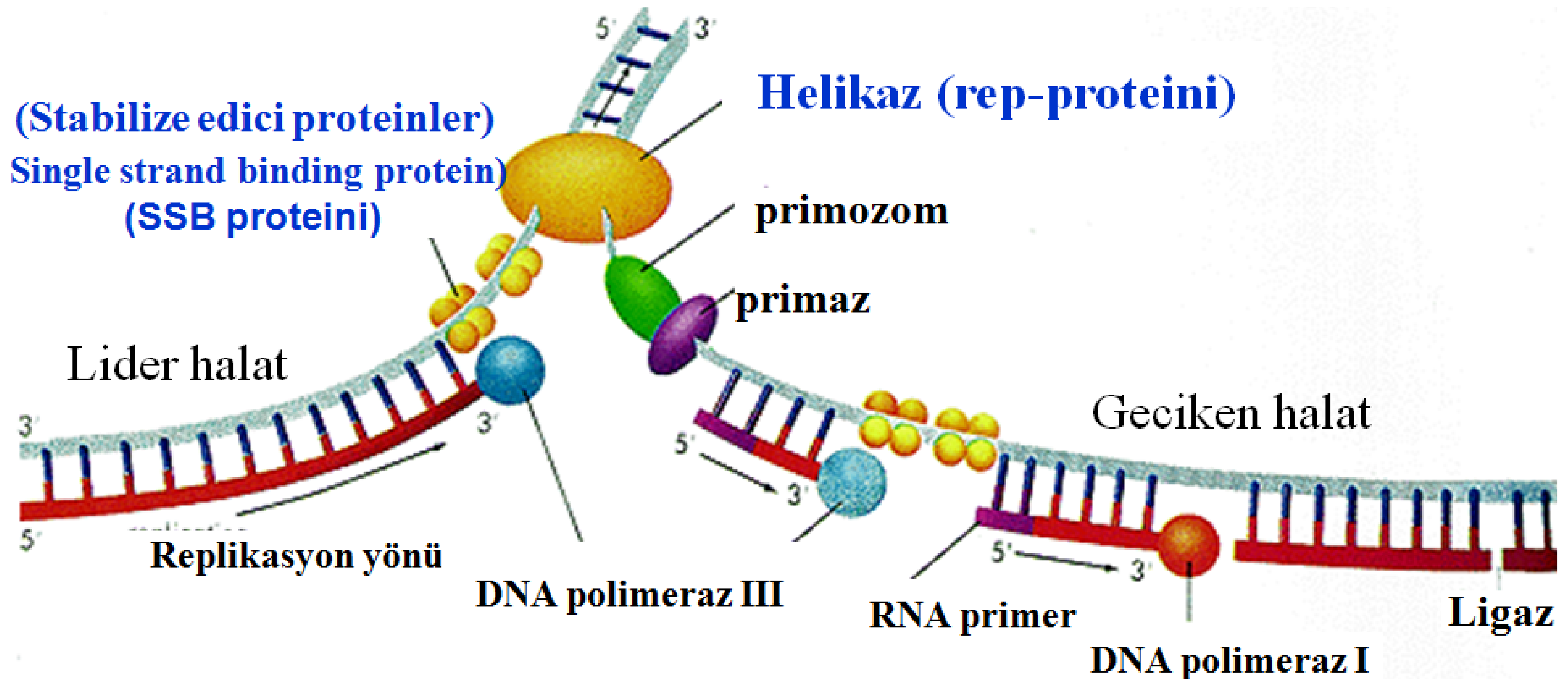
DNA'nın replikasyonu sırasında, her bir halatın bir kalıp görevi görebilmesi için, iki halatın birbirinden ayrılması gerekir. Açılacak bölgenin yakını superhelezonlaşmış yapıdadır.

Önce ***topoizomeraz*** (***DNA-giraz***) helezonlaşmış bölgede bir yarık oluşturur ve molekül o bölgede gevşer. Replikasyon boyunca topoizomeraz (DNA-giraz) molekülü gevşetir.

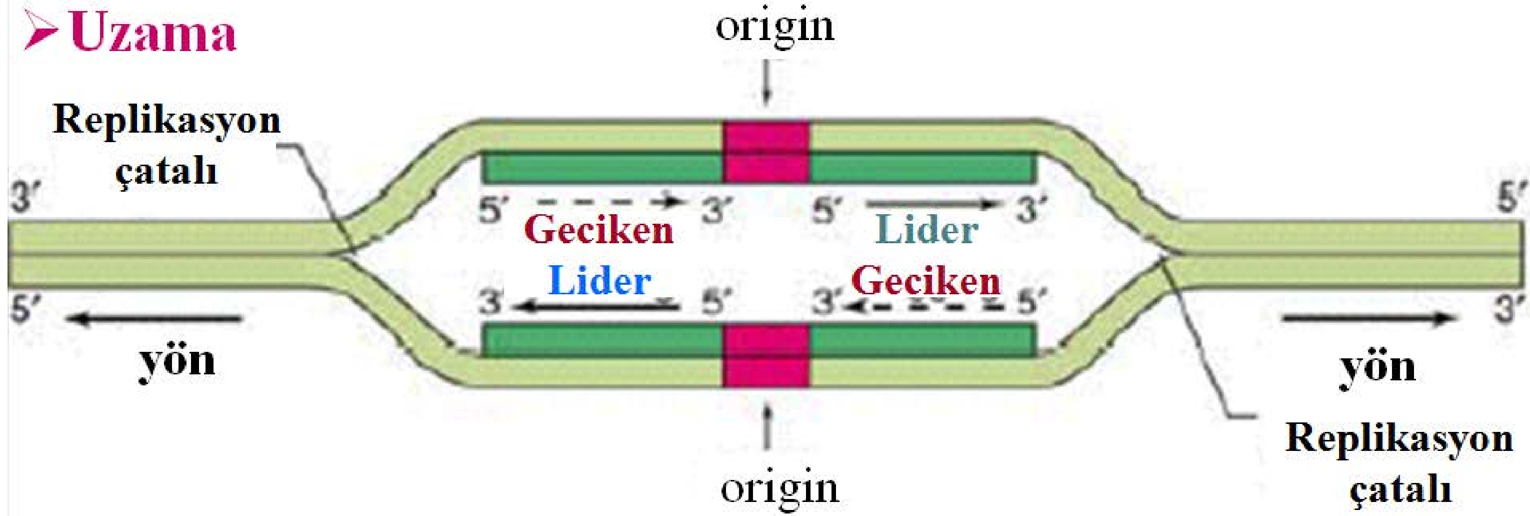


Topoizomerazı (DNA-girazı) takiben **helikaz (Rep proteini)** sarmalı destabilize eder ve bağlandığı yerden halatların açılmasını sağlar ve replikasyon çatalı meydana gelir.

DNA çift sarmalın ayrılması, replikasyon çatallanması ilerledikçe **tek halatı stabilize eden spesifik protein** molekülleri tarafından uyarılır. Bu stabilize edici proteinler, nukleotidlerin kalıp olarak hizmet verme yeteneklerine müdahale etmeksizin tek halatlara bağlanırlar ve halatların baz eşleşmesiyle birbirine bağlanmalarını önlerler.

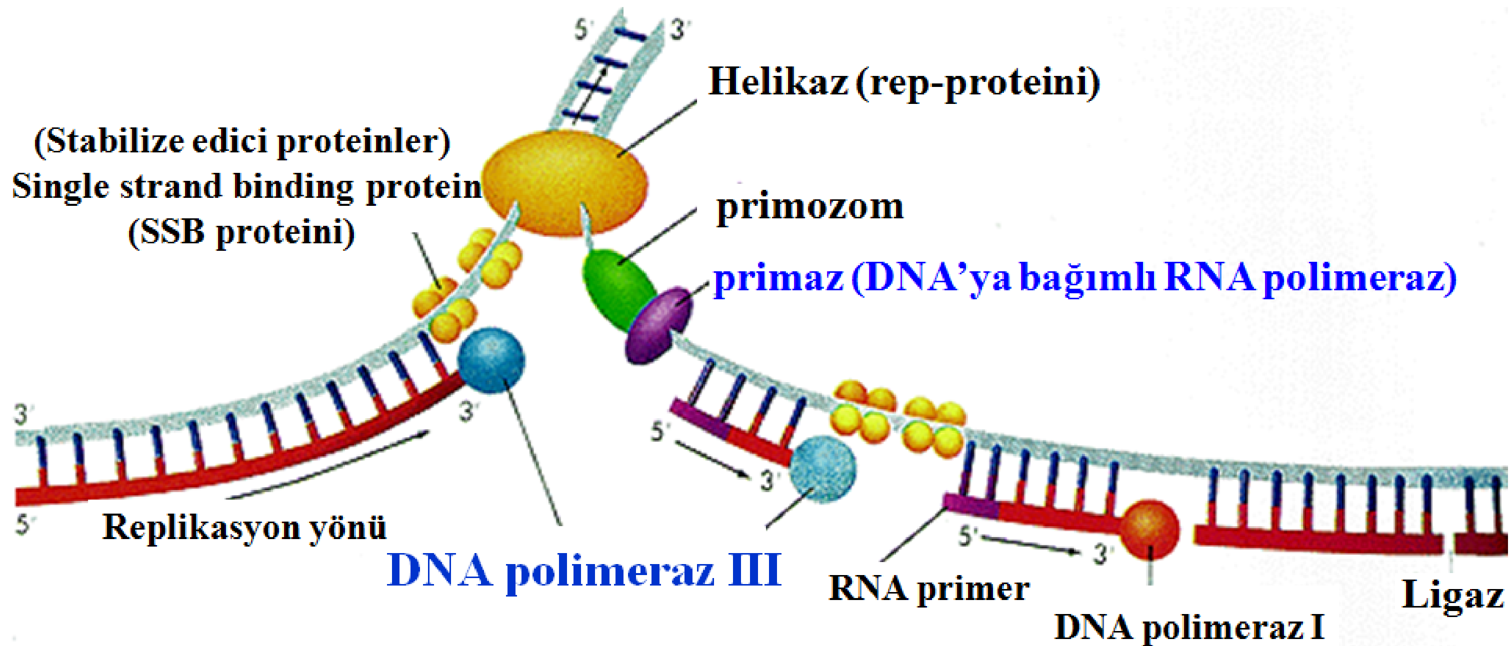


➤Uzama



Replikasyon kromozom boyunca her iki yönde meydana gelir ve halatların her ikisi aynı zamanda replike olurlar. DNA’nın halatları ayrıldığı zaman, halatlardan biri 5'→3', diğeri ise 3'→5' yönündedir. 3'→5' yönündeki halatın kalıp olarak kullanılması ile yeni sentezlenen halatın yönü 5'→3' olur, yani replikasyon çatalın açılma yönü ile aynı yönde devam eder. Bu halatın sentezi devamlı’dır ve **lider** (**ileleyici**) adı verilir. 3'→5' yönünde sentez yapılamadığı için, diğer halatın sentezi kesintili olarak devam eder. Bu halata **geciken (ağır yürüyen)** halat adı verilir ve sentezi replikasyon çatalın hareketine zıt yönde ilerler.

Üzerine helikaz ve ssb proteinleri bağlandıktan sonra çift halatı aralanmış olan DNA'nın halatları üzerine primaz (RNA polimeraz) bağlanarak oluşacak destek RNA polimerinin ilk NTP'ı baz eşleşmeleriyle yerlerini alırlar. Bu yerleşme, aralanmış olan DNA parçasının 3' ne yakın bir yerinde meydana gelir. Bu şekilde sentez 5' →3' yönünde sürer ve yaklaşık 10 nukleotid uzunluğunda **RNA destek polimeri** meydana gelir. Destek polimeri bir DNA-RNA hibrit sistemidir (DNA kalıbının tamamlayıcı ve ters yönde paralel). RNA destek polimeri oluştuktan sonra, primaz ayrılır, yerine **DNA polimeraz III** bağlanır. RNA destek polimerinin serbest 3'-OH ına baz eşleşmesiyle ve bir dNTP'tan yararlanarak bir dNTP yerleştirilir ve bu suretle ilerleyici halatın sentezi kesintisiz olarak devam eder.



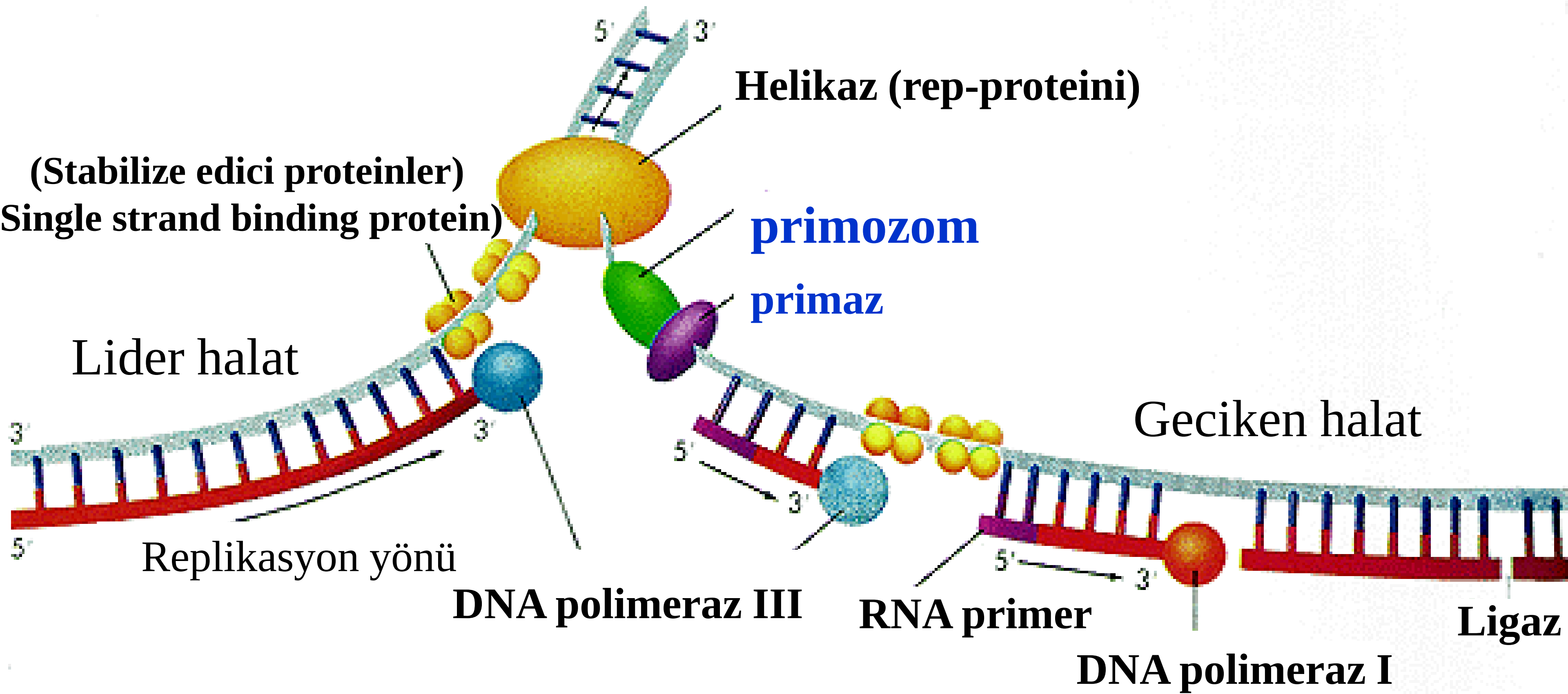
❑ DNA polimeraz III aktivitesi

Fosfodiester bağların oluşmasını sağlar.

Çift halatlı DNA molekülde arda arda birden çok fosfodiester bağının kopmasıyla meydana gelen açıklığın (gap) veya sadece bir fosfodiester bağının kopmasıyla meydana gelen çentik (nick) bulunması durumunda 3'-OH ına bağlanır ve hemen bunun yanındaki dNTP'ın 5'-PPP sı ile nukleofilik olarak etkileşmesini sağlayarak fosfodiester bağı oluşturur

5'→3' polimeraz aktivitesi

Aynı olaylar DNA'nın aralanan diğer halatında (geciken), antiparalel bir şekilde sürer. 7 proteinden oluşan **primozom kompleksi** geciken halat boyunca 5'→3' yönünde hareket ederek belirli mesafelerde primazı uyarır ve 10-60 nukleotid uzunlukta RNA destek polimerleri DNA nın bir çok yerlerinde oluştuktan sonra, DNA polimeraz III ün etkisiyle 500 -1000 dezoksinukleotid yerlerine yerleşerek bir sonraki sentezin başlama noktasına dayanır. Böylece küçük bir kısmı RNA-DNA hibrit polimeri, büyük bir kısmı ise DNA-DNA çift halatı olan ve aralarında çentikler bulunan **okazaki birimleri** oluşur.



Lider halat

Replikasyon çatalı

büyümektedir

Geciken halat

5'

3'

Sentez edilen DNA

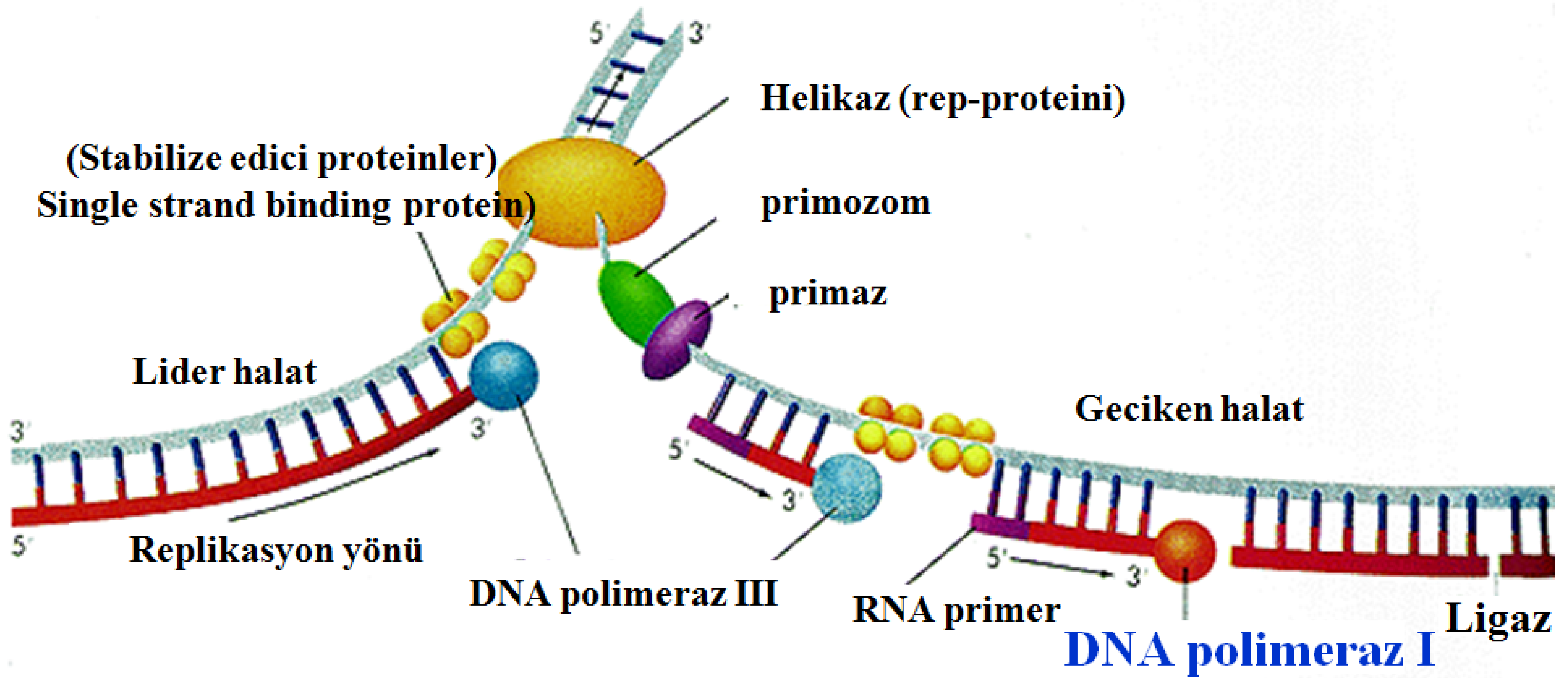
. . . büyümektedir

Okazaki birimleri

5'

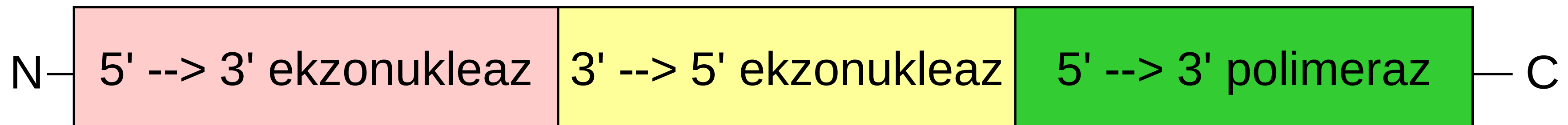
3'

Okazaki birimleri oluştuktan sonra, **DNA polimeraz III** ayrılır, yerine **DNA polimeraz I** bağlanır.



DNA polimeraz I

- 5' --> 3' polimeraz aktivitesi
- 3' --> 5' ekzonukleaz aktivitesi
- 5' --> 3' ekzonukleaz aktivitesi



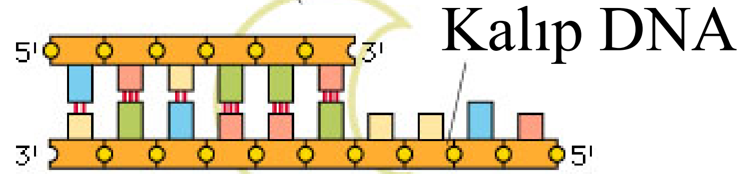
❑ RNA destek polimerinin çıkartılması ve yerine dezoksinukleotidlerin yerleştirilmesi

Enzimin 5'→3' ekzonukleaz aktivitesi kendini gösterir, çentik içindeki 5'-P yi tanıyarak oraya bağlanır ve RNA polimerlerini oligonukleotidler halinde yerlerinden çıkartır.

Ayni zamanda 3'→ 5' ekzonukleaz aktivitesi ile çentikteki dezoksinukleotidlerin 3'-OH ına bağlanır ve baz eşleşmesinin doğruluğunu denetler.

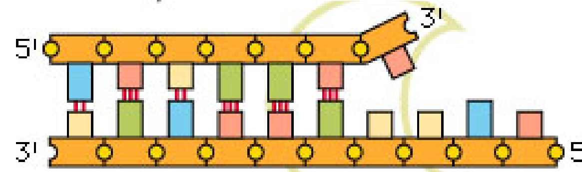
Baz eşleşmesi doğru ise polimeraz aktivitesi ile, dNTP i kullanarak ve PPi ayrılarak bir sonraki dezoksinukleotidi yerleştirir, baz eşleşmesinde hata varsa, bu dezoksinukleotidi yerinden çıkartır ve yerine doğrusunu aynı şekilde yerleştirir.

DNA polimeraz I

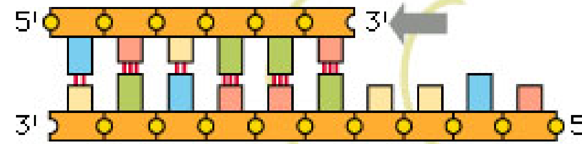


Kalıp DNA

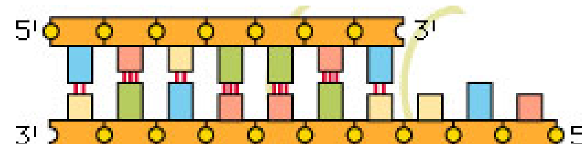
Polimeraz hatalı nukleotid yerleştirir



3' → 5' ekzonukleaz aktivitesi ile hatalı nukleotid uzaklaştırılır

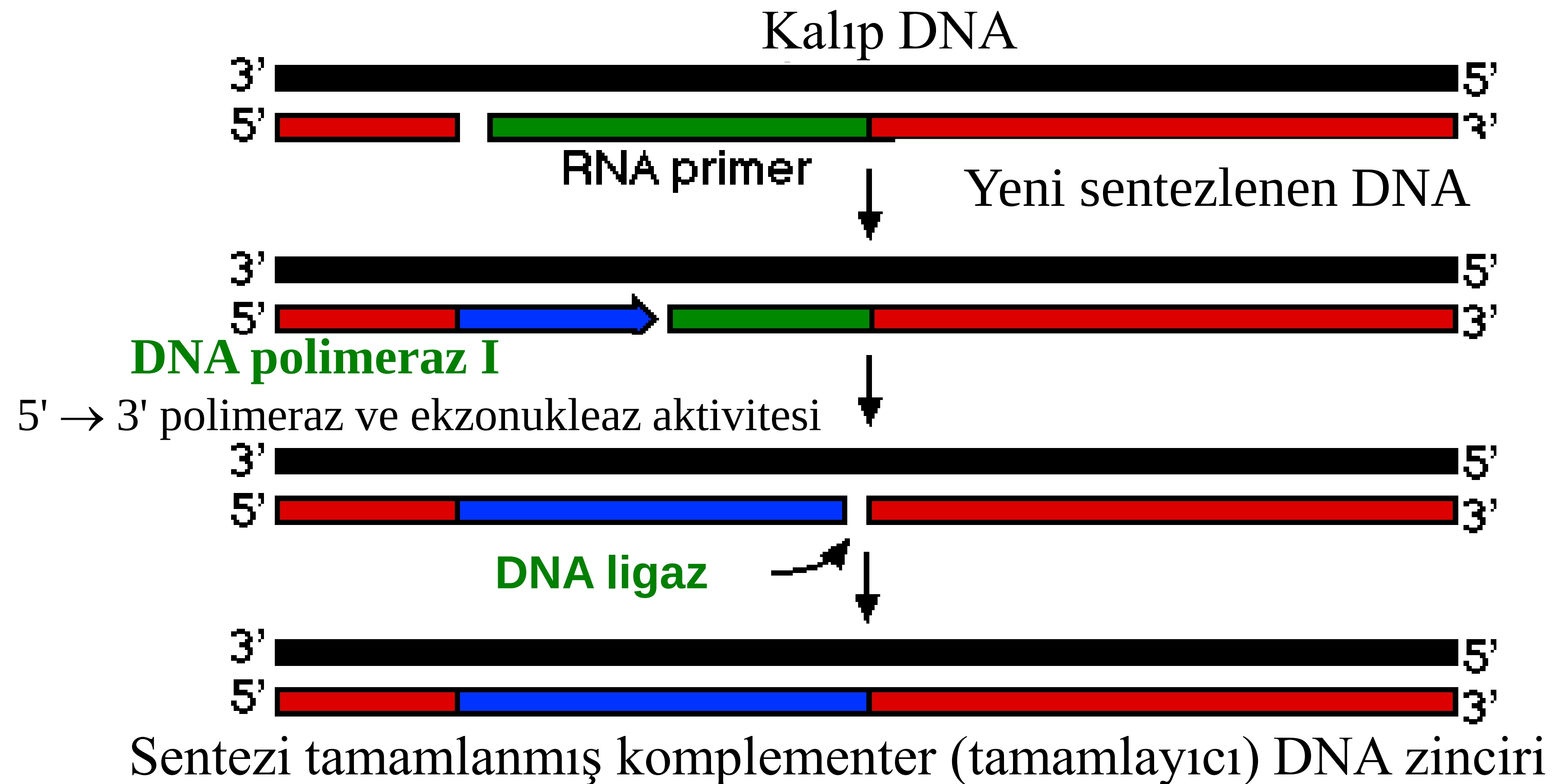


Doğru nukleotid yerleştirilir



Sentez **5' → 3'** yönünde devam eder

Sentez böylece sürer. Sonunda destek polimerinin nukleotidleri yerlerinden çıkartılmış ve yerlerine dezoksinukleotidler yerleştirilmiş, üzerinde birçok çentikler bulunan DNA çift halatı meydana gelir. DNA polimeraz I ayrılır ve yerine **DNA ligaz** bağlanır. Çentiklerin kapatılması için gerekli enzim **DNA ligaz'**dır. Çentik içerisinde 3'-OH ve 5'-PPP arasındaki fosfodiester bağın oluşumunu sağlar.



Sentezi tamamlanmış komplementer (tamamlayıcı) DNA zinciri

❑ Sonlanma basamağı: Topoizomerazın etkisi ile her iki DNA molekülü birbirinden tamamen ayrılır.

❑ DNA nın bozuk kısımlarının onarılması:

➢ Mutasyonlar: DNA'nın baz dizesindeki bir değişikliğin sonucudur. Bunlar DNA'nın kusurlu replikasyon, hareket veya tamiratının sonucu olabilirler ve yaklaşık her bir 10^8 lık hücre bölünmesinde 1 adet olacak bir sıklıkla ortaya çıkarlar. Kotlayıcı DNA sındaki mutasyonların sonucu anormal bir gen meydana gelebilir.

Nokta mutasyonu: Bir baz yerine diğer baz geçer

-Bir purin yerine bir başka purin veya bir pirimidin yerine bir başka pirimidinin geçmesine **transisyon** denir.

- Bir purin yerine pirimidinin veya bir pirimidin yerine purinin geçmesine **transversiyon** denir.

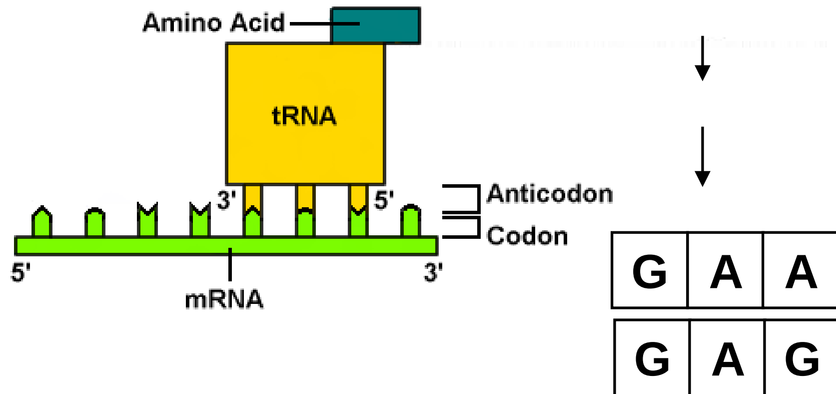
• Klasik örnek genomdaki 3 x 10^{9} bazdan bir tekindeki mutasyon sonucu meydana gelmiş olan **orak hücre anemisi** nde β-globin geninin 6. kodonuna karşıt olan mRNA'da **A**'nın **U**'ya değişmesi ile sonuçlanan bir DNA belirler (glutamil asidin yerine valin) ve bu mutasyon β-globin molekülünde yapısal bir anormalliğe neden olur.



10 µm

Val	His	Leu	Thr	Pro	Glu	Glu	· · ·
1	2	3	4	5	6	7	

Normal kırmızı kan hücreleri



G	A	A
G	A	G



10 µm

Val	His	Leu	Thr	Pro	Val	Glu	· · ·
1	2	3	4	5	6	7	

Orak hücre anemisinde eritrositin bikonkav biçiminden orak şekline değişimi gerçekleşir.

G	U	A
G	U	G

- β Talasemide nokta mutasyonları β-globinin azalmış üretimi veya bazı durumlarda hiç meydana gelmemesine yol açar.

mRNA 5' GCU GGA GCA CCA GGA CAA GAU GGA 3'

polipeptid N Ala Gly Ala Pro Gly Gln Asp Gly C

Nokta mutasyonu

Belirtisiz

GCU GGA GCC CCA GGA CAA GAU GGA

Ala Gly Ala Pro Gly Gln Asp Gly

Yanlış anlamlı

-*Transisyon*

-*Transversiyon*

GCU GGA GCA CCA AGA CAA GAU GGA

Ala Gly Ala Pro Arg Gln Asp Gly

Anlamsız

GCU GGA GCA CCA GGA UAA GAU GGA

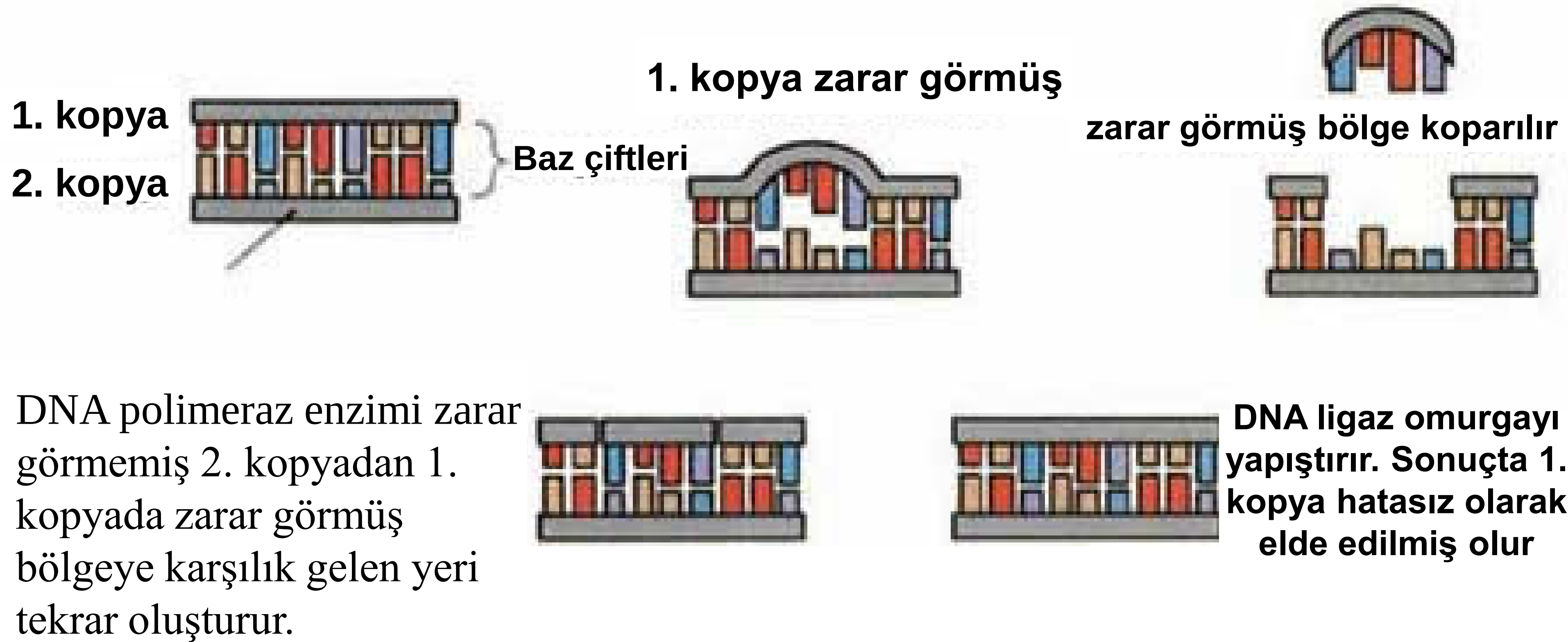
Ala Gly Ala Pro Gly Stop

Çerçeve kayması

GCU GGA GCC ACC AGG ACA AGA UGG A

Ala Gly Ala Thr Arg Thr Arg Trp

Çerçeve kayması (Frame shift mutations): Birden fazla bazın araya girmesi veya çıkması olayı sonucunda olur.



Transkripsiyon

RNA biosentezi (transkripsiyon)

DNA'ya bağımlı olarak RNA ların transkripsiyonu

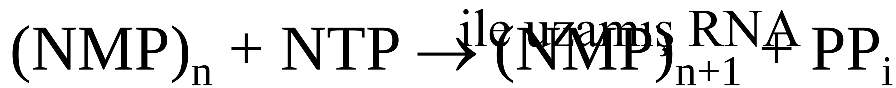
Transkripsiyon – Genetik bilginin DNA'den RNA'e geçmesi'dir. Bu biokimyasal reaksiyonun enzimi **RNA polimerazdır**.

Genetik bilgi – DNA veya onun bir polinukleotid zincirinin tamamlayıcısı olan RNA daki nukleotidlerin purin ve pirimidin bazlarının diziliş sırası ile proteinlerdeki amino asidlerin diziliş sırası arasındaki bağıntıdır.

RNA polimerazın özellikleri

1. DNA’ya bağımlı RNA polimeraz kalıp halata 3'→5' yönünde bağlanır ve genin kalıp halatının tamamlayıcısı olan ribonukleotidlerin 5'→3' yönünde polimerleşmelerinden sorumludur.

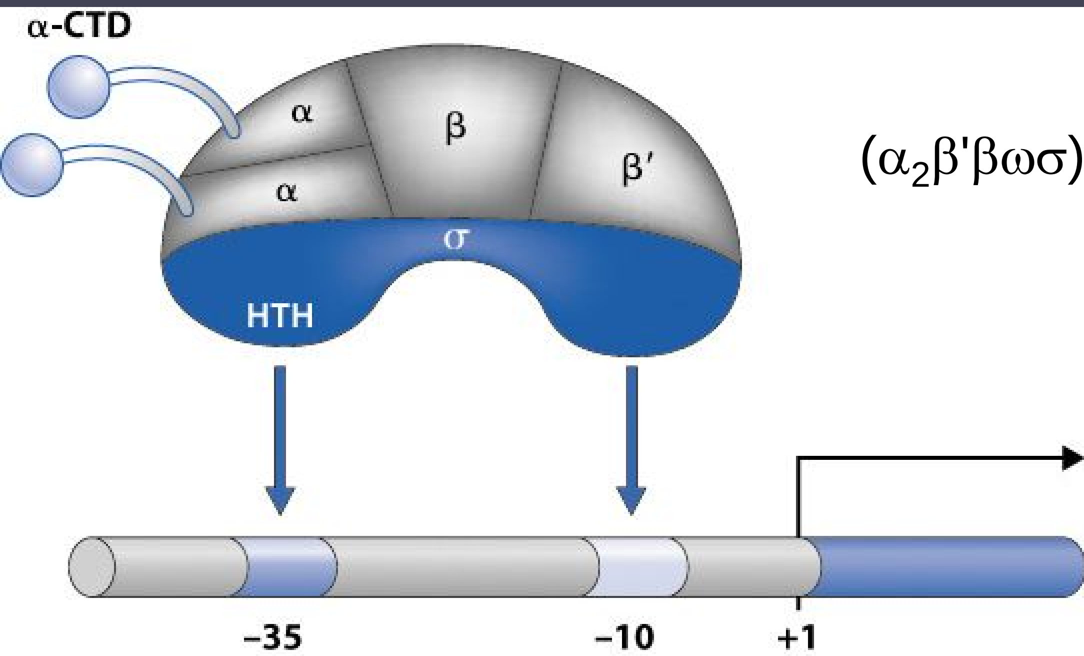
   Bir nukleotid ile uzamış RNA

   RNA

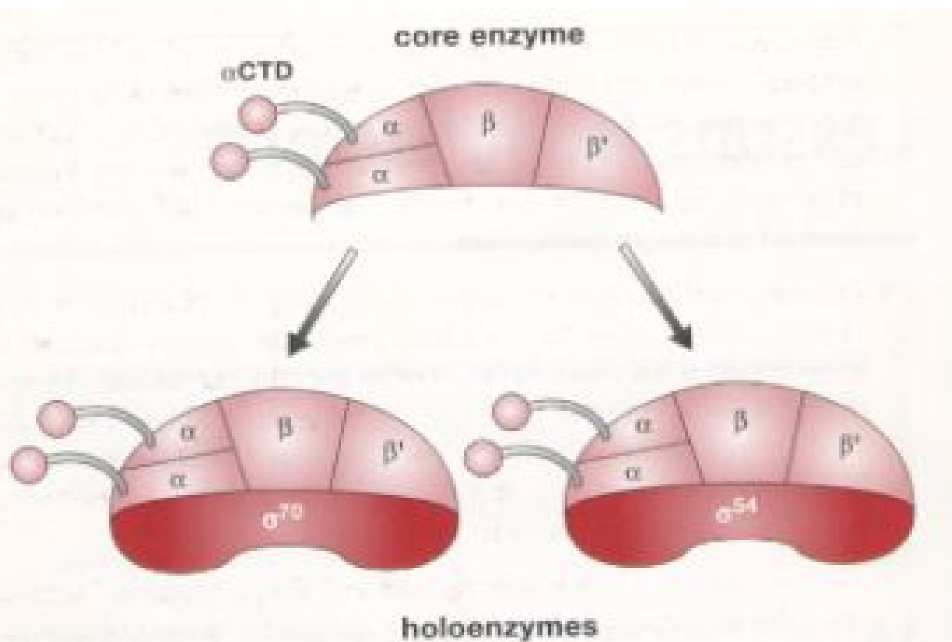
2. Sentez için Mg^{2+} ve 4 tane NTP’a gereksinim vardır-ATP, GTP, CTP, UTP

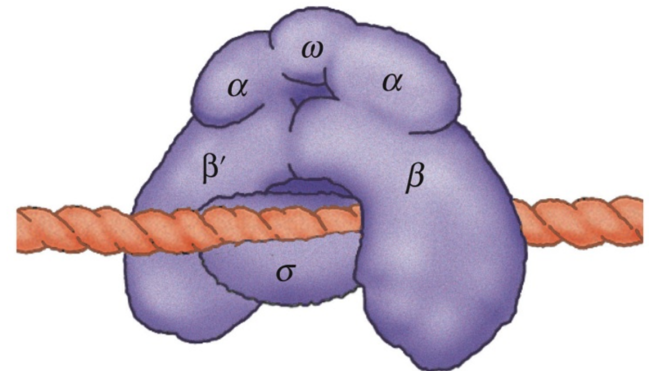
3. Sentez için öncül moleküle (primer) gereksinim yoktur. DNA kalıbı yeterlidir.



($\alpha_2\beta'\beta\omega\sigma$)

İlk fosfodiester bağı oluştuktan sonra σ altbiriminin uzaklaşmasıyla zincir uzama süreci başlar





α_2: İki α altbirimi enzimi biraraya getirirler ve düzenleyici faktörlerle etkileşirler. Bu altbirimlerin karboksil uç bölgesi, promotöre bağlanır, amino uç bölgesi polimerazın geri kalan kısmına bağlanır.
β: Polimeraz etkinliğine sahiptir, zincir başlatma ve uzatma dahil, RNA sentezini katalizler.
β': DNA'ya özgül olmayan şekilde (non-spesifik olarak) bağlanır.
ω: RNA polimerazın altbirimlerinin biraraya gelmesini sağlar. Denatüre olmuş RNA polimerazı tekrar çalışır hale getirir, koruyucu ve şaperon işlevine sahiptir.

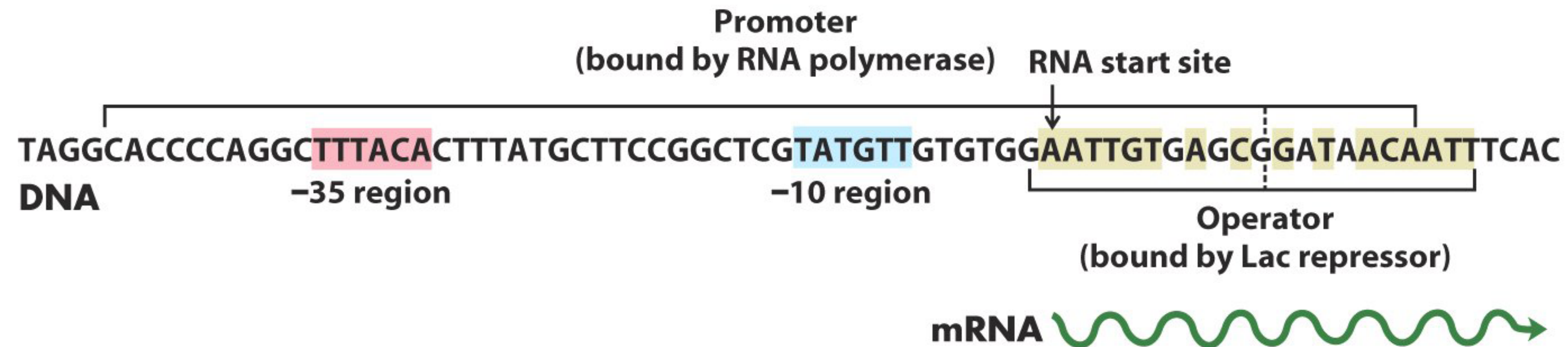
σ: Promotörlere bağlanabilmek için çekirdek enzimin sigma (σ) adında bir altbirime daha gereği vardır. Sigma faktörü RNA polimerazın (non-spesifik) DNA'ya affinitesini iyice azaltıp bazı promotör bölgelere olan spesifiteyi artırır. Tüm holoenzim dolayısıyla 6 altbirimden oluşur: α2ββ'σω (~480 kDa).

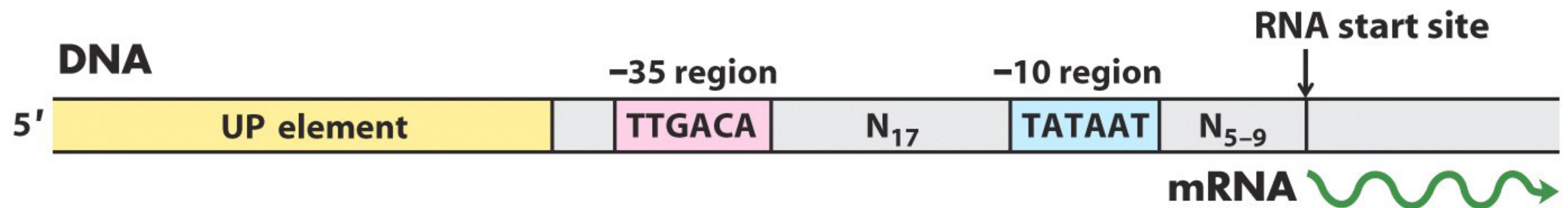
RNA polimeraz çalışmadığı zamanlar DNA üzerinde düşük affiniteli yerlere bağlı olur, yani hücre içinde serbestçe dolaşmaz.

Kalıp halattaki bazı DNA dizileri transkripsiyon sinyalleri olarak önem taşırlar. DNA'ya bağımlı RNA polimeraz bu dizileri tanıyana kadar DNA molekülünü $\approx 10^3$/bç/s'lik bir hız ile tarar ve bu dizilere bağlanır. Bu dizilere **promotör** adı verilir.

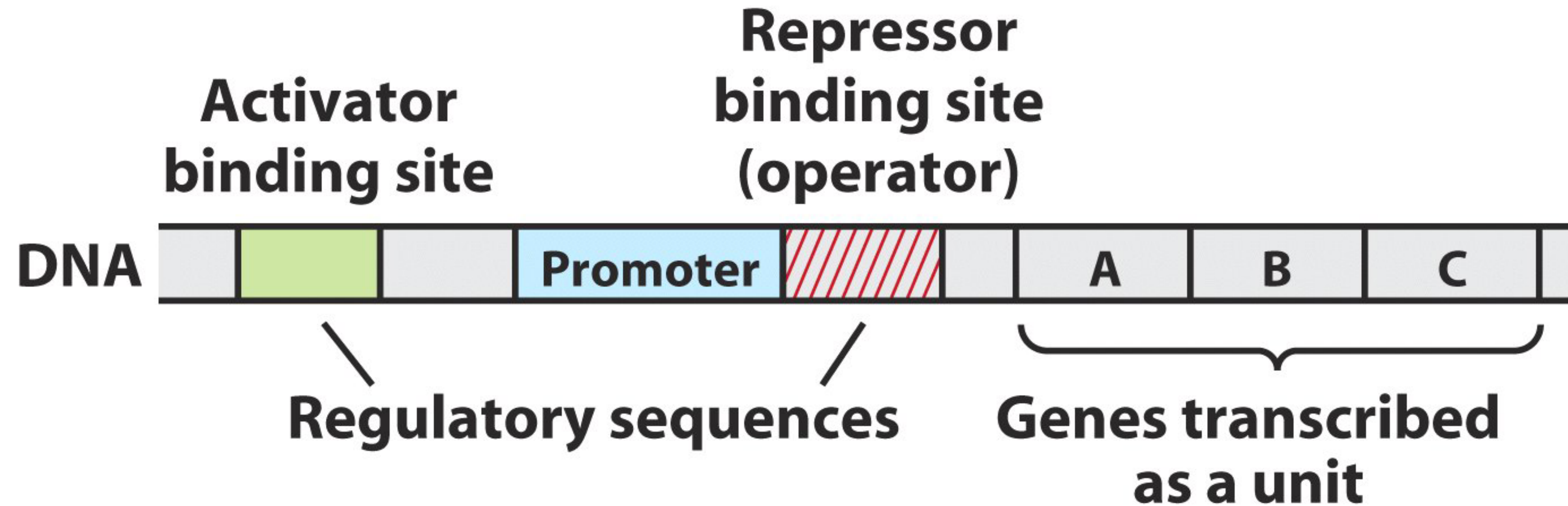
Promotörler – transkripsiyon başlama bölgesinde kendilerini tekrarlayan konsensus **dizileri** vardır.

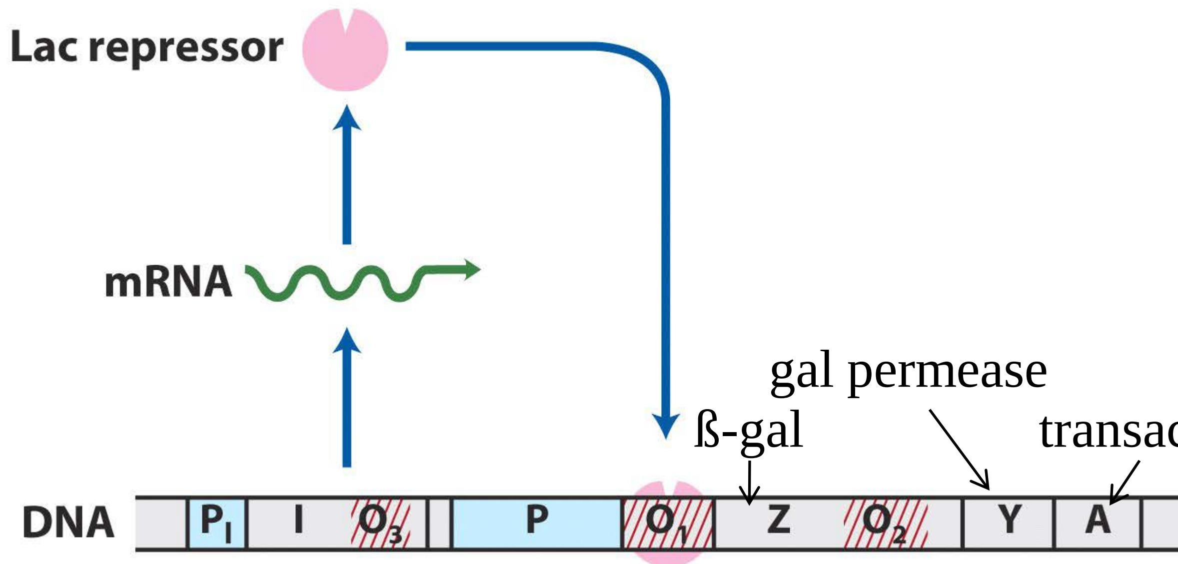
- 6 nukleotidlik dizi -5'-TATAAT-3' - transkripsiyon başlangıç nukleotidden (+1) 10 baz çifti kadar önce -10 bölgede bulunur; TATA veya Pribnow kutusu)
- 8 nukleotidlik dizi 5'-TGTTGACA-3' - transkripsiyon başlangıç nukleotidden (+1) 35 baz çifti kadar önce -35 bölgede bulunur
- TFIID transkripsiyon faktörü - TATA kutusuna bağlanarak RNA polimeraz II'nin bağlanmasını kolaylaştırır.
- DNA transkripsiyon faktörleri – transkripsiyonunun sıklığını belirlerler.


Promoter
(bound by RNA polymerase)
RNA start site
TAGGCACCCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTCAC
DNA
−35 region
−10 region
Operator
(bound by Lac repressor)
mRNA


RNA start site
DNA
−35 region
−10 region
5′
UP element
TTGACA
N17
TATAAT
N5–9
mRNA

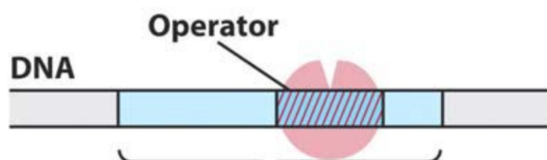
Operon


Activator binding site
Repressor binding site (operator)
DNA
Promoter
A
B
C
Regulatory sequences
Genes transcribed as a unit



(bound repressor inhibits transcription)

Sinyal molekülü: Laktoz





Outside

Lactose

Galactoside permease

Inside

CH_2OH CH_2OH

Lactose

β-galactosidase

CH_2OH $O-CH_2$

Allolactose

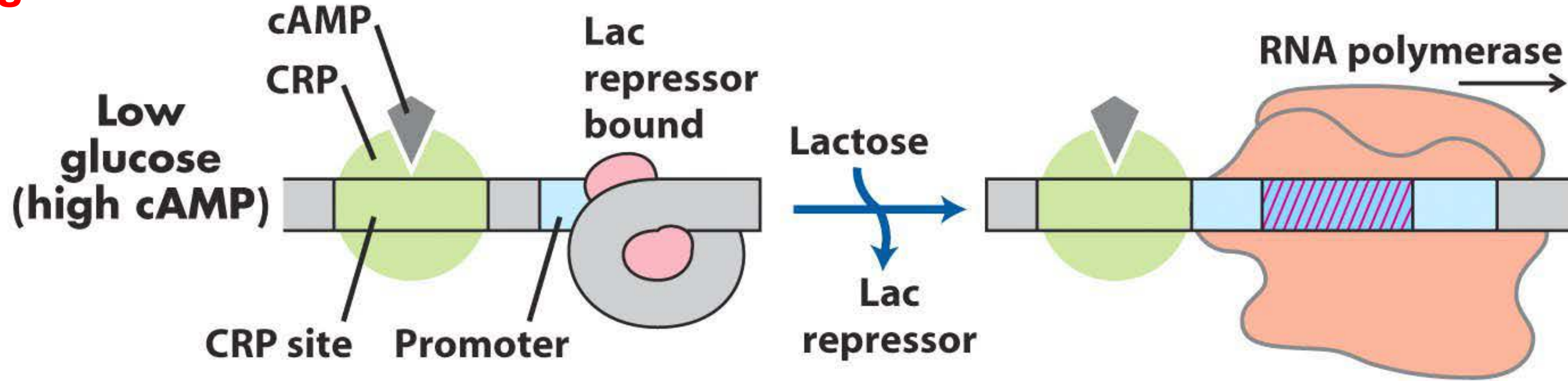
CH_2OH + CH_2OH

Galactose

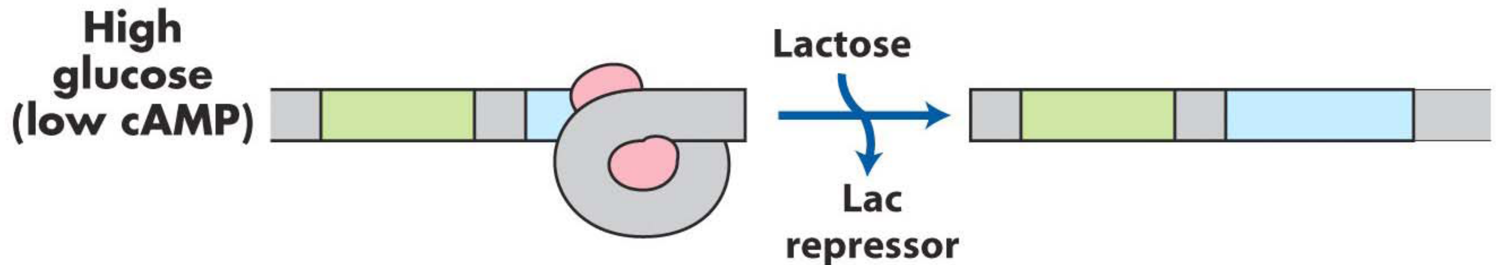
Glucose

Trankripsiyon düşük glucose /lactose yüksek olduğunda gerçekleşir

Aktivatör bağlı iken



Aktivatör bağlı değilken



yüksek glucose/düşük cAMP ise laktoz yüksek olsa bile transkripsiyon gerçekleşmez.

Transkripsiyon 4 basamakta gerçekleşir:

1. Kalıba bağlanma: RNA polimeraz DNA'ya bağlanır ve bir promotörü lokalize eder.

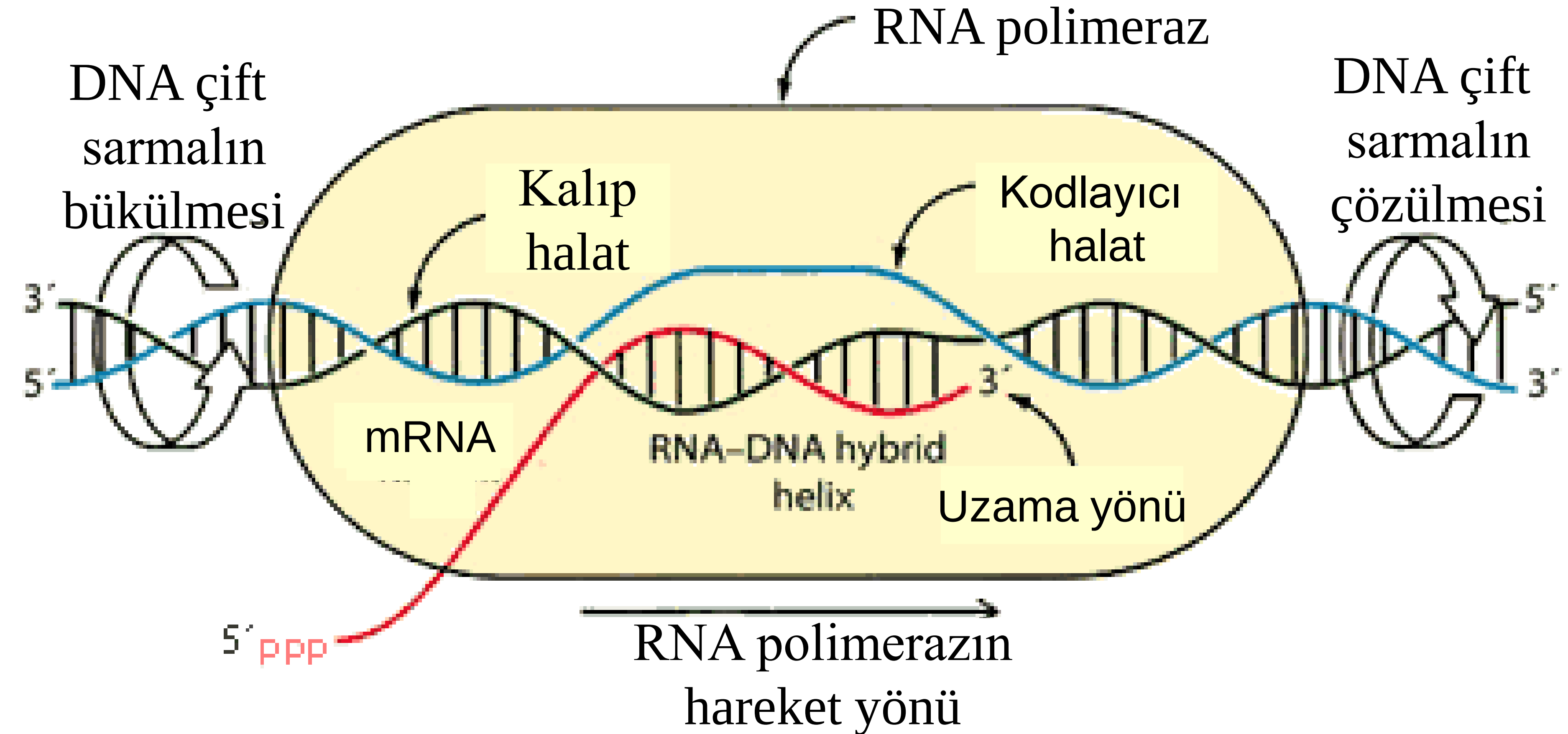
2. Zincir başlangıcı. RNA polimeraz ilk NTP ikinci bir ribonukleozit trifosfat ile eşleşmesini katalize eder.

3. Zincir uzaması: Sentezlenen RNA molekülünün 3' ucuna arka arkaya NTP'ı baz eşleşmeleri ile yerlerine yerleşir ve difosfat ayrılarak fosfodiester bağlar oluşur. RNA, 5'→3' yönünde DNA kalıbına ters yönde paralel olarak sentezlenir.

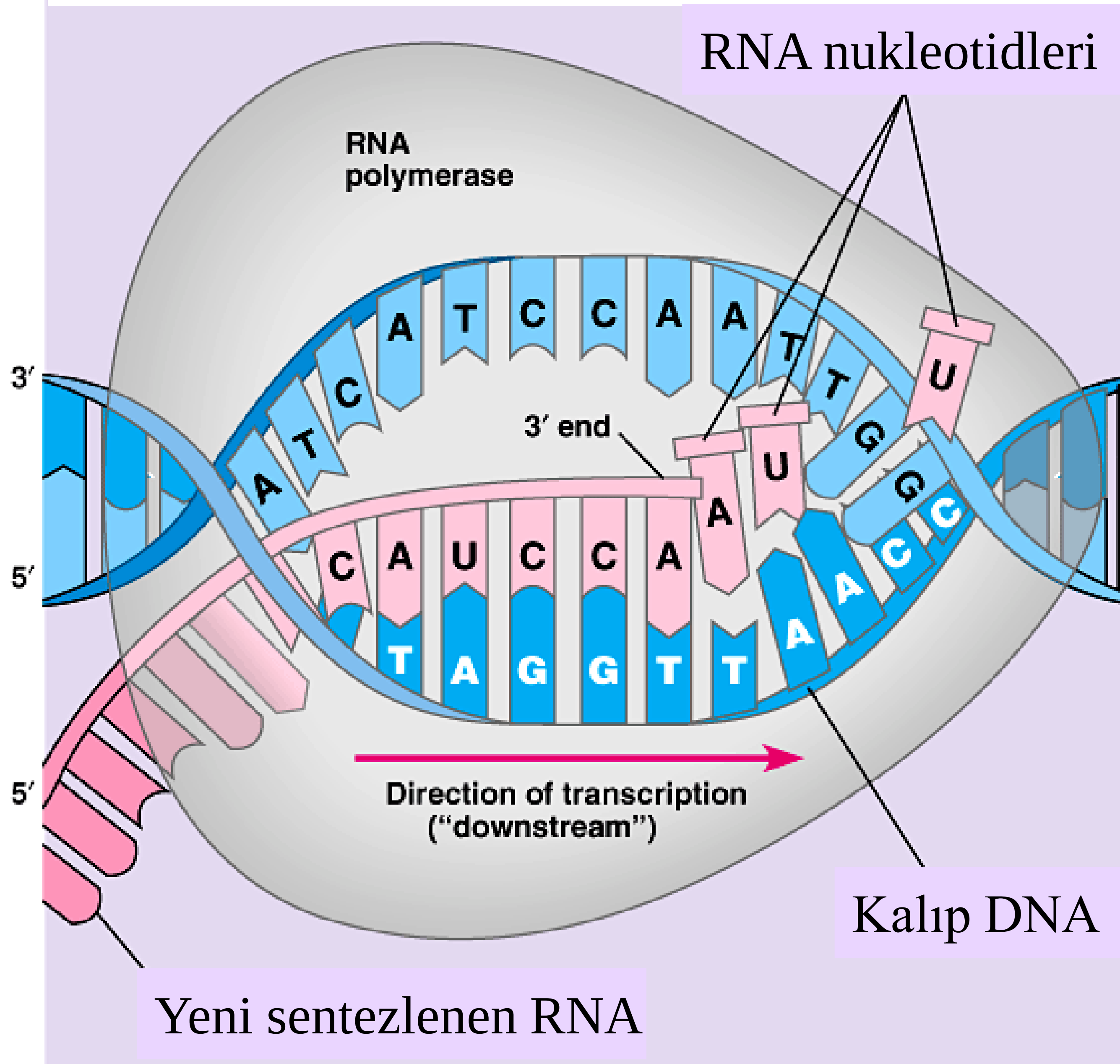
DNA	RNA
G	C
C	G
T	A
A	U

4. Zincir sonlanması: DNA molekülünün kalıp halatındaki bazı diziler sonlanma sinyalleri olarak görev görürler.

DNA molekülü boyunca RNA polimeraz ilerledikçe, kalıp halatın nukleotidlerine uygun baz eşleşmesine olanak sağlamak için DNA sarmalın çözülmesi gereklidir. DNA sarmalın çözülme derecesi transkripsiyon boyunca sabittir ve her bir polimeraz molekülü başına 17 baz çifti kadardır. DNA sarmalın bir taraftan çözülmesini (negatif superhelezonlar oluşturarak), diğer taraftan bükülmesi ve helezonlaşmasını (pozitif superhelezonlar oluşturarak) kataliz eden enzim topoizomerazdır.



Zincir uzaması



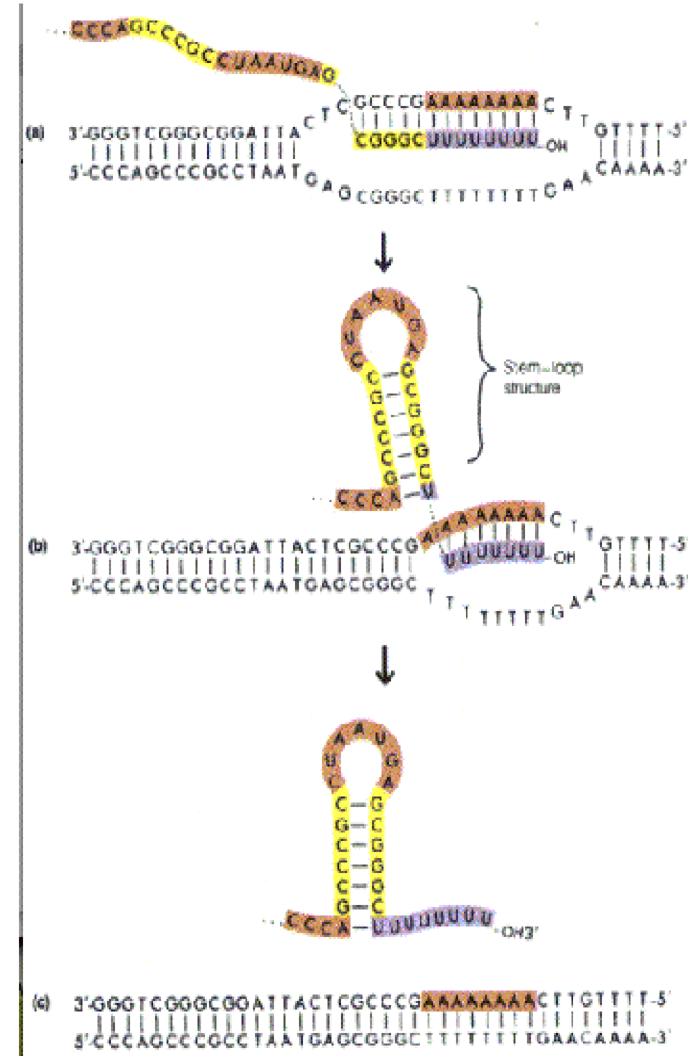
Transkripsiyonun sonlanması. DNA molekülünün kalıp halatındaki bazı diziler sonlanma sinyalleri olarak görev görürler. Buraya Rho sonlanma faktörün bağlanır.

Transkripsiyon, Rho’ya bağımlı ve Rho’dan bağımsız iki farklı yolla bitebilir.

Rho’dan bağımsız olan bitişte iki önemli özellik görülür

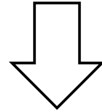
1. RNA transkripitinin bitiş noktasından 15-20 nukleotid önce, transkriptin kendi üzerine katlanıp bazlar arasında bağ yaparak saç firketesi şeklini aldığı G-C’ce zengin bir bölge
2. Kalıpta bulunan kısa bir adenilat zinciridir.

Gerek saç firkete şeklindeki yapı, gerekse RNA’daki U zinciri ile kalıp DNA’daki A zincirinin bağ yaparak oluşturdukları A=Ubölgesi, RNA-DNA ilişkisini zayıflatarak ve RNA polimeraz ve transkript arasındaki ilişkiyi bozarak transkriptin ayrılmasını kolaylaştırır

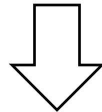


Ökaryot transkripsiyonu

Kromatinin transkripsiyon için açık hale gelmesi

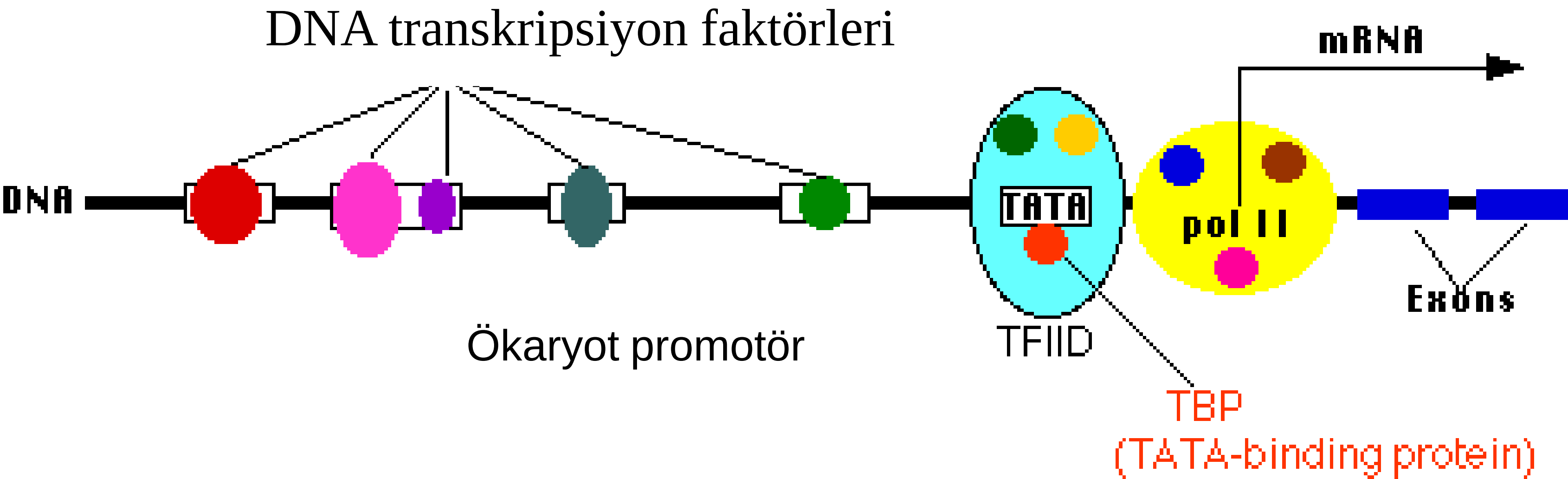


Transkripsiyon faktörlerinin (TF) promotör bölgede DNA'ya bağlanması ile genin aktiflenmesi



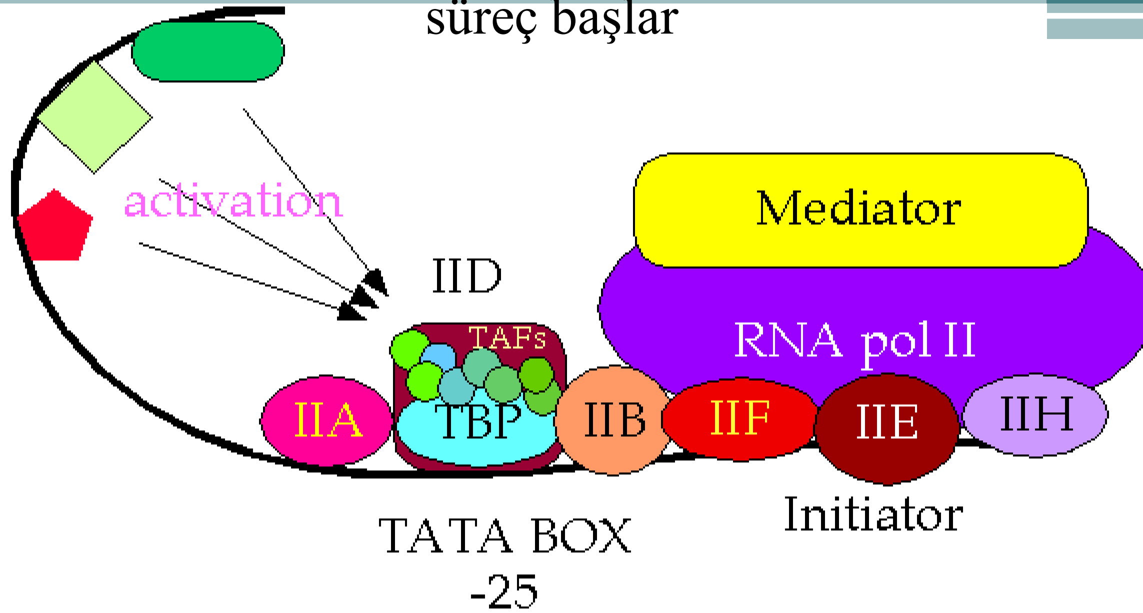
Hızlandırıcıların aktivatörlere bağlanarak transkripsiyonu uyarması

RNA polimeraz II, TATA kutusu bölgesinde kodlayıcı halatına bağlanır ve transkripsiyonu 25 nukleotid akış aşağı (3' yönünde) konumda başlatır.

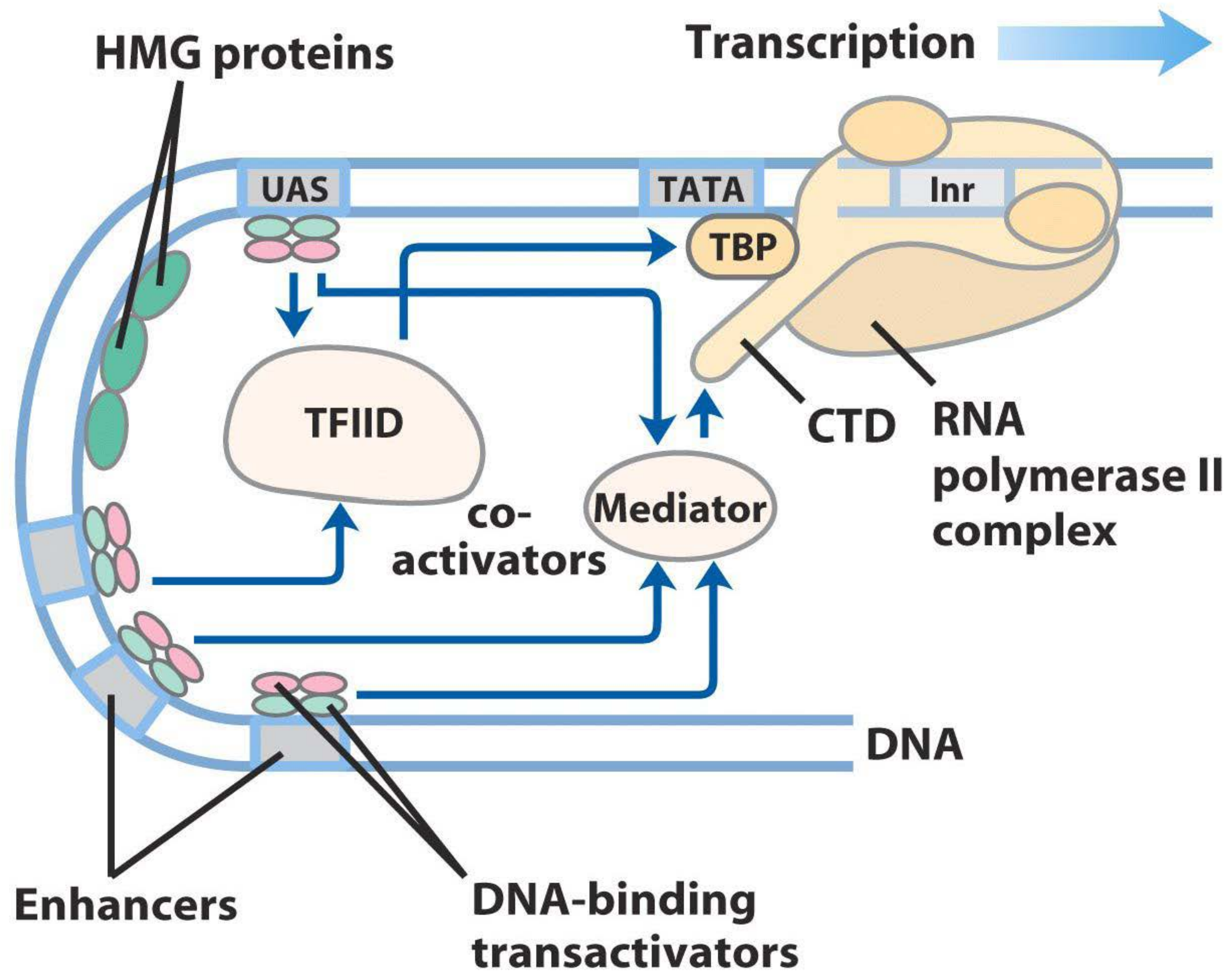


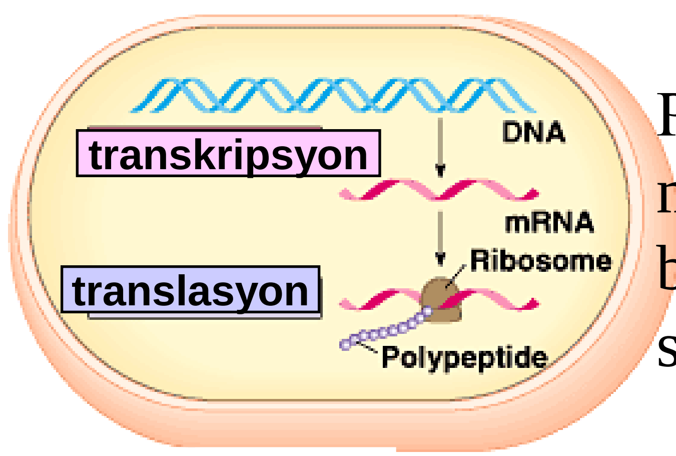
+1

TATA bağlayıcı proteinin (TBP) TATA kutusuna bağlanması ile süreç başlar



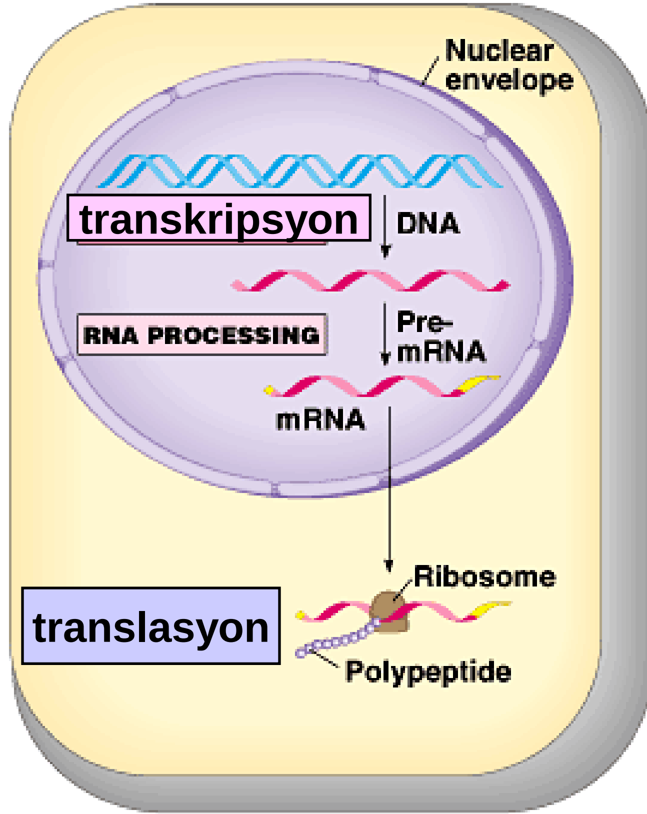
TFIIB'ye hem TBP, hem de DNA'ya bağlanır.
TFIIA - TFIIB-TBP kompleksine bağlanarak, bu kompleksin DNA ile ilişkisini sağlamlaştırır.
TFIIB-TBP kompleksine TFIIF ve RNA polimeraz II'den oluşan başka bir kompleks bağlanınca, polimeraz II'nin promotöre yaklaşması sağlanır.
TFIIE ve TFIIH'nın promotöre bağlanması ile kapalı kompleks tamamlanır.
Helikaz aktivitesine sahip olan TFIIH, başlama noktasında DNA'yı açarak açık komplekse geçişi sağlar. Böylece oluşan transkripsiyon kompleksinde otuzdan fazla protein bulunur.


HMG proteins
Transcription
UAS
TATA
Inr
TBP
TFIID
Mediator
co-
activators
CTD
RNA
polymerase II
complex
DNA
Enhancers
DNA-binding
transactivators



Prokaryot hücresi

Prokaryotlarda hücre çekirdeği yoktur. mRNA ayrıca sentezlendikten sonra herhangi bir işlemden geçmeden doğrudan sitoplazmaya gider.

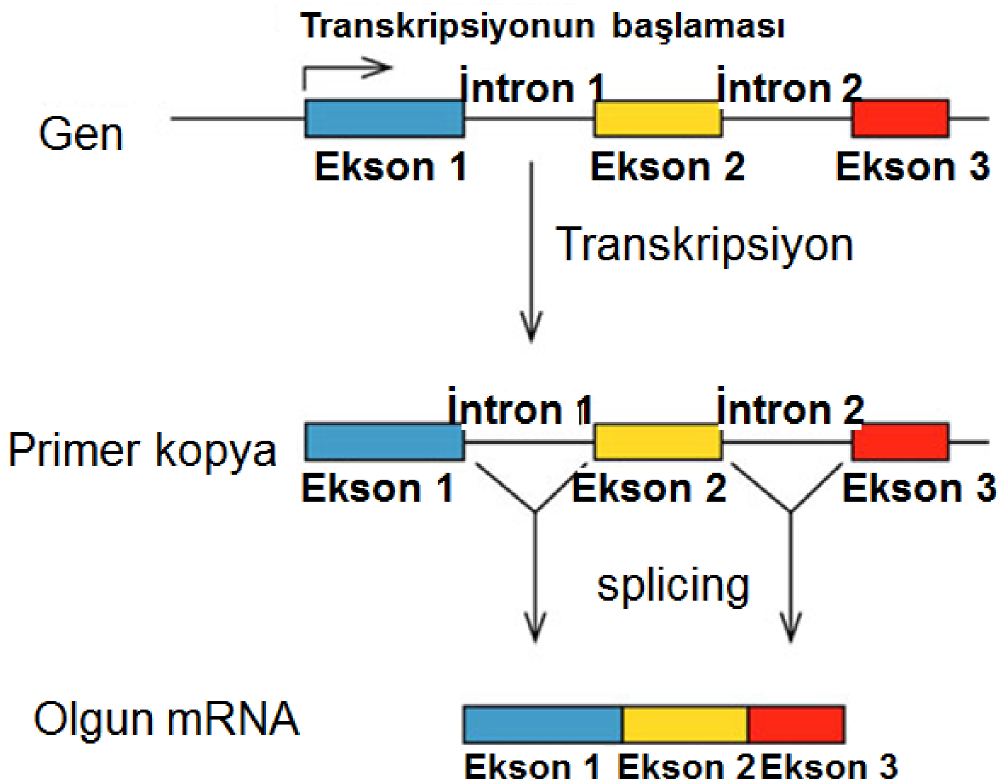


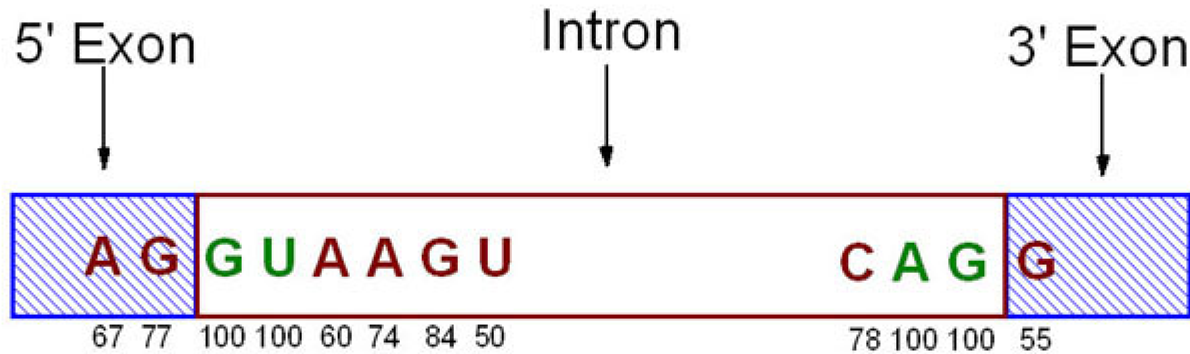
Ökaryot hücresi

Oysa ökaryotik hücrede mRNA sentezi çekirdekte gerçekleşir ve öncül-mRNA adını alan bir seri işlemden geçtikten sonra çekirdeği matür mRNA şeklinde terk ederek sitoplazmaya geçer ve ribozoma ulaşır. Burada polipeptid sentezi gerçekleşir.

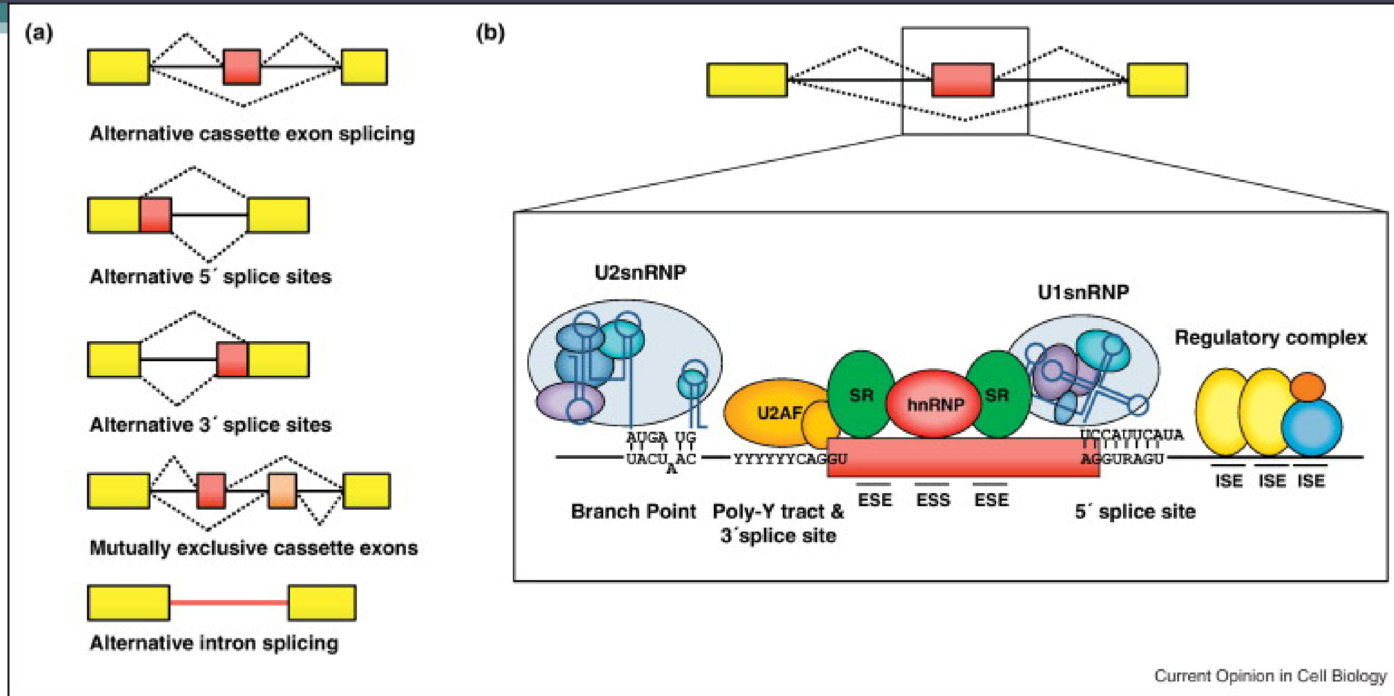
İntronların uzaklaştırılması

Prokaryot genleri sürekli genlerdir, ökaryot genleri ise sürekli değildir. DNA'nın primer kopyalarında, olgun mRNA yı oluşturmak üzere uzun kotlayıcı parçaları bağlayan ve uzaklaştırılmaları gereken DNA'nın kotlayıcı olmayan müdahale edici dizileri bulunur. Bunlara **intronlar** denilir. DNA'nın kotlayıcı bölgeler ise eksonlardır. İntronların prekürsör mRNA'dan uzaklaştırılmaları ve eksonların bir arada bağlanmalarına **RNA splicing** denilir.





Tüm intronlar GU dizisi ile başlayıp AG dizisi ile biter. Bunlara sırası ile verici ve alıcı intron-ekzon bağlantıları denir.



Kesilme ufak nükleer ribonükleoproteinler (snRNP) denilen RNA-protein komplekslerinin yardımı ile gerçekleşir. Her snRNP'de, yaklaşık 100-200 nükleotid uzunluğunda bir tane ufak nükleer RNA (snRNA) bulunur. Ökaryotik çekirdeğinde kesilme işlemlerinde beş adet snRNA (U1, U2, U4, U5, U6) görev alır.

Hücre, intronun içindeki GU ile olgun mRNA'da bulunan GU dizilerinin ayırımı: U1snRNP, verici GU dizisini bulunduğu bölge ile, U2RNA'nın 3' ucundaki bazı önemli dizilerle baz eşleşmesi yapar.

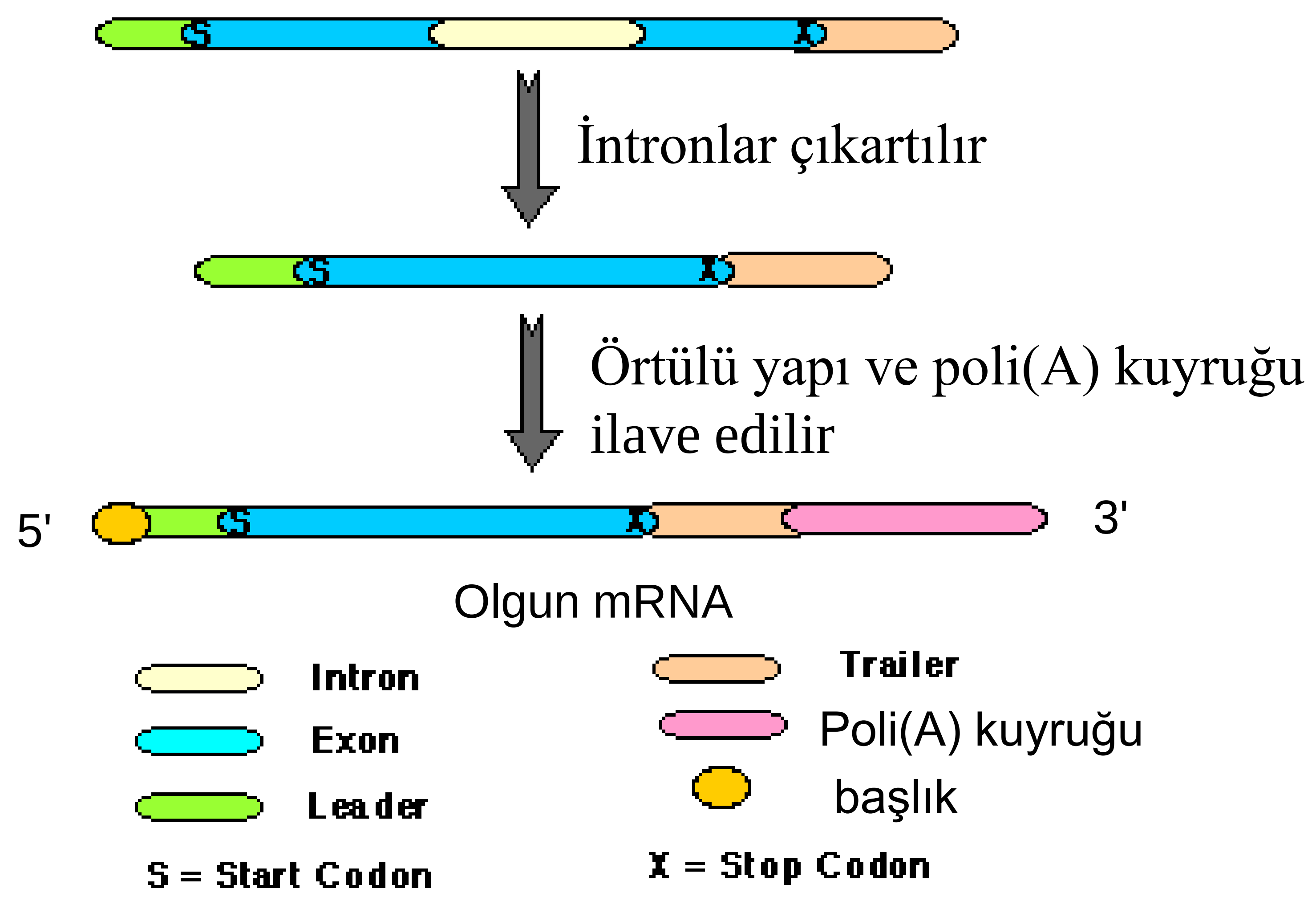
Ökaryotik mRNA'ların İşlenmesi

- Uçlardaki fazla dizilerin kesilmesi
- *5′ uçta* ***şapka yapısı*** (metil guanozin şapkası) oluşumu.
  - •Guanilil transferaz tarafından bir *GTP*nin 5′ trifosfat ucuna *bağlanması* (5′-5′ trifosfat bağlantısı).
  - •Metil transferaz tarafından şapka yapısında *metillenmeler*in meydana getirilmesi.

şapka 0 yapısı, tüm ökaryotlarda.
şapka 1 yapısı, tek hücreliler hariç diğer tüm ökaryotlarda.
şapka 2 yapısı, bazı türlerde.

Şapka yapısının mRNA'yı fosfataz ve diğer nükleazların etkisinden koruması !?!?
Şapka yapısındaki lider bölgede bulunan *şapka dizisi* translasyonda (ribozoma bağlanmada) önemli

- 5' - başlığın eklenmesi (CAP)
- poli(A) zincirinin eklenmesi



Ribozomlar

- Hem prokaryotik hem ökaryotik hücrelerde bulunan polipeptid sentez organelidir.

- Mitokondri ve kloroplastta da bulunur.

- Bir büyük birde küçük alt birimden oluşmuştur.

- Herbir alt birimin bir rRNA bir de protein komponenti vardır.

- Protein sentezinin olmadığı durumlarda alt birimler ayrı olarak bulunurlar

Ökaryotik ribozomlar 80S

- Küçük lt birim (40S)
  - 18S rRNA ve 33 protein
- Büyük alt birim (60S)
  - 28S + 5.8S + 5S rRNA ve 49 protein

Prokaryotik ribozomlar 70S

- Küçük alt birim (30S)
  - 16SrRNA ve 21 protein
- Büyük alt birim (50S)
  - 23S + 5S rRNA ve 32protein

Prokaryotik ve ökaryotik canlılara ait ribozomlar, düşük Mg konsantrasyonlu çözeltilerde çöktürüldüklerinde sedimentasyon katsayıları (çökelme katsayıları) birbirinden farklıdır.

S=swedberg birimi: ultrasantrifüj sırasındaki çökelme katsayısı

Ökaryotik hücrelerin mitokondri ve kloroplastlarında prokaryotiklerdekine benzer şekilde 70S ribozom vardır

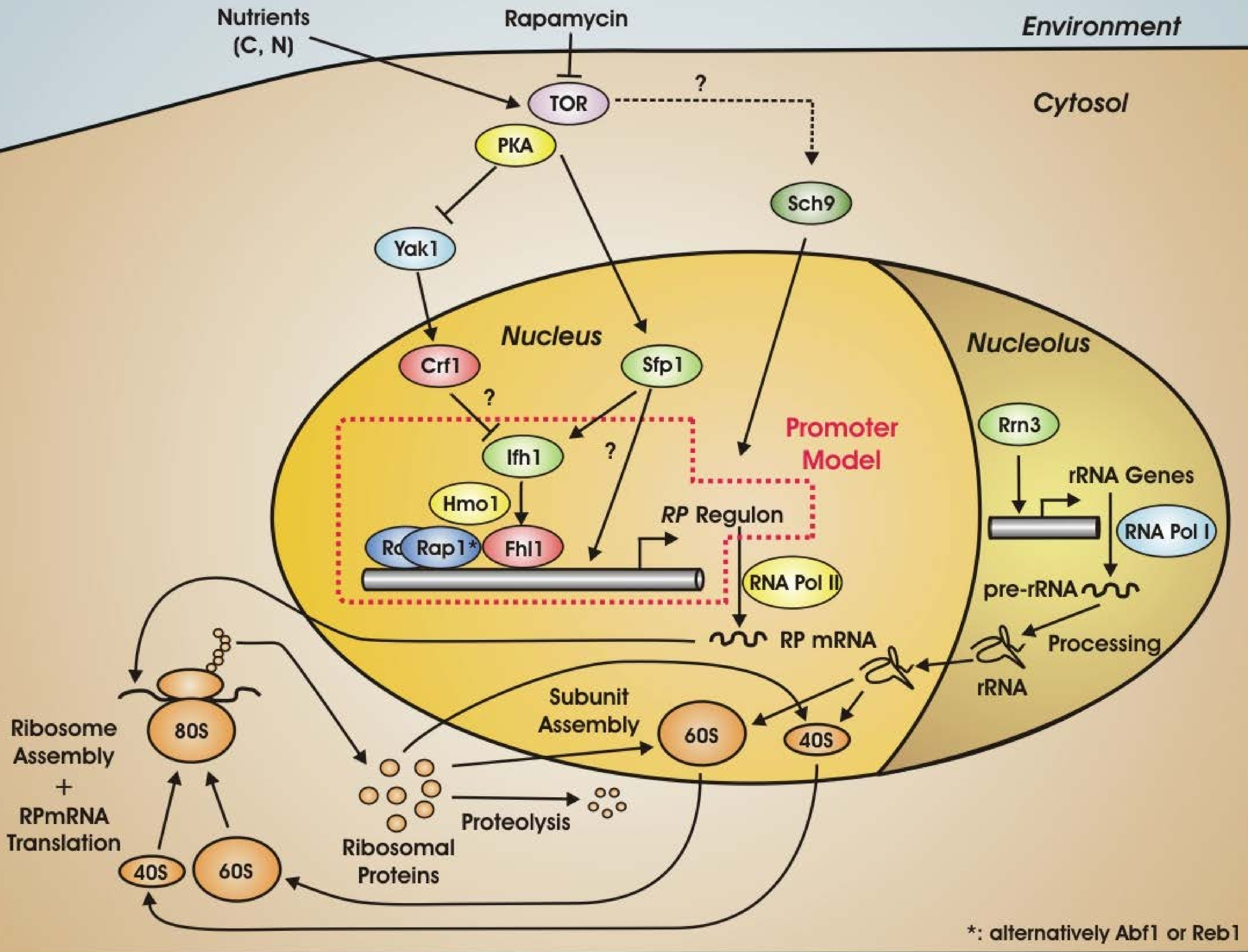
Ribozom Sentezi

rRNA birimleri Nükleolusta rRNA genlerinde sentez edilir.

45SrRNA (öncü)= 28S, 5.8S ve 18S rRNA
5S rRNA

Ribozomal proteinler ise sitoplazmada sentezlenir ve nükleusa geçerek rRNA'ler ile birleşeceği nükleolusa gelir.

Böylece büyük ve küçük alt birimler oluşur.



Nutrients
(C, N)
Rapamycin
Environment
TOR
?
Cytosol
PKA
Sch9
Yak1
Nucleus
Nucleolus
Crf1
Sfp1
?
Promoter
Model
Rrn3
Ifh1
?
rRNA Genes
Hmo1
RP Regulon
RNA Pol I
Rap1*
Fhl1
RNA Pol II
pre-rRNA
RP mRNA
Processing
rRNA
Subunit
Assembly
80S
60S
40S
Ribosome
Assembly
+
RPmRNA
Translation
Proteolysis
Ribosomal
Proteins
40S
60S
*: alternatively Abf1 or Reb1

-rRNA genleri, kromozomların NOR (nucleolar organizer region=rRNA genlerini içren bölge) bölgelerinde bulunur.

-Kromozomların bu bölgeleri, nükleusun nükleolus sahasında yoğunlaşmıştır. NOR bölgeleri 13, 14, 15, 21 ve 22 akrosentrik kromozomların satelit bölgelerine yerleşmişlerdir.

-5S rRNA geni ise diğerlerinden ayrı olarak 1. kromozom üzerinde bulunur.

rRNA

Ribozomun katalitik aktivitesinden sorumludur ve peptid bağını yapar

Yüksek derecede sekonder yapı gösterir çift zincirli yapı (%70)

Ribozomal proteinler

rRNA'nın katlanmasına ve tRNA'nın pozisyon lmasına yardım eder.

Ribozomun büyük ve küçük alt

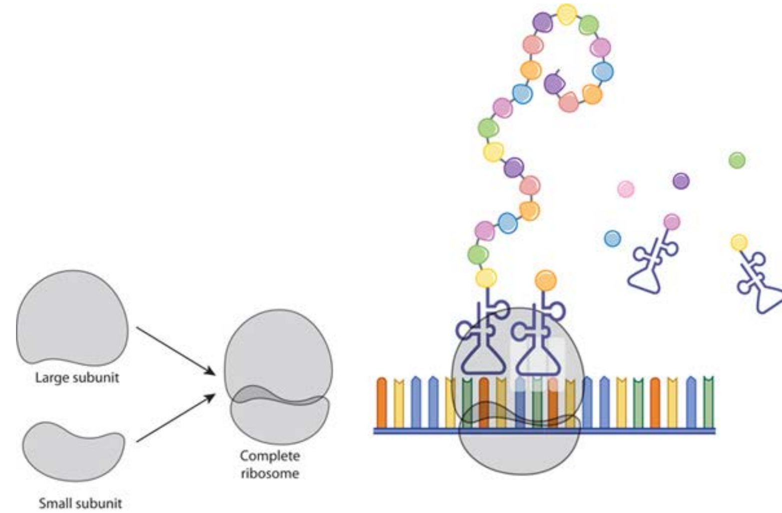
birimleri protein sentezi olmadığı

zaman birbirinden ayrı olarak bulunur

Protein sentezi sırasında bir araya

gelerek sentez mekanizmasını

Oluştururlar.



Ribozomlar ökaryotik hücrelerde sitoplazmada serbest halde ya

da GER yüzeyinde bulunur

Protein sentezi sırasında küçük ve büyük alt birimleri mRNA

üzerinde bir araya gelerek boncuk dizisi şeklinde dizilir. Bu

şekilde oluşan yapıya POLİZOM denir

Sebest ribozomlar

Hücre içi yapısal proteinlerin sentezine katılırlar.

Sitoplazmik serbest ribozomlarda sentezlenen proteinler

1. Nükleus
2. Mitokondri
3. Kloropalst
4. Peroksizom
5. Sitoplazmik proteinlerleri, tubulin, aktin
   1. Glikoliz enzim
6. Periferal membran proteinleri

   Spektrin, ankrin

Serbest ribozomlar

Oositte

Embriyonik hücrelerde

Keratinositlerde

Prokaryotik hücrelerde daha fazla bulunur

Bağlı Ribozomlar

GER membranına bağlı şekilde bulunurlar

Sadece ökayotik hücrelerde bulunurlar

Salgı proteinleri

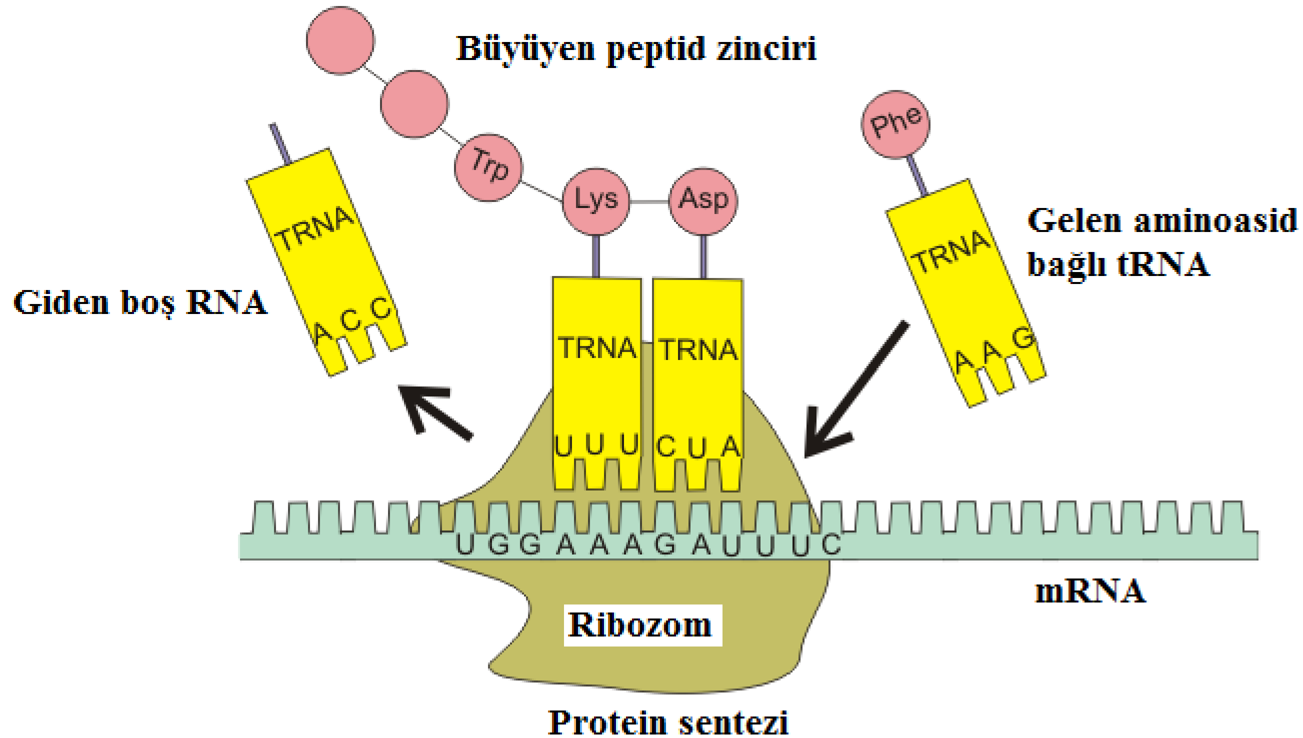
Lizozomal proteinler

Golgi ve ER proteinleri

Plazma membran glikoproteinlerinin sentezi gerçekleştirilir.

Translasyon

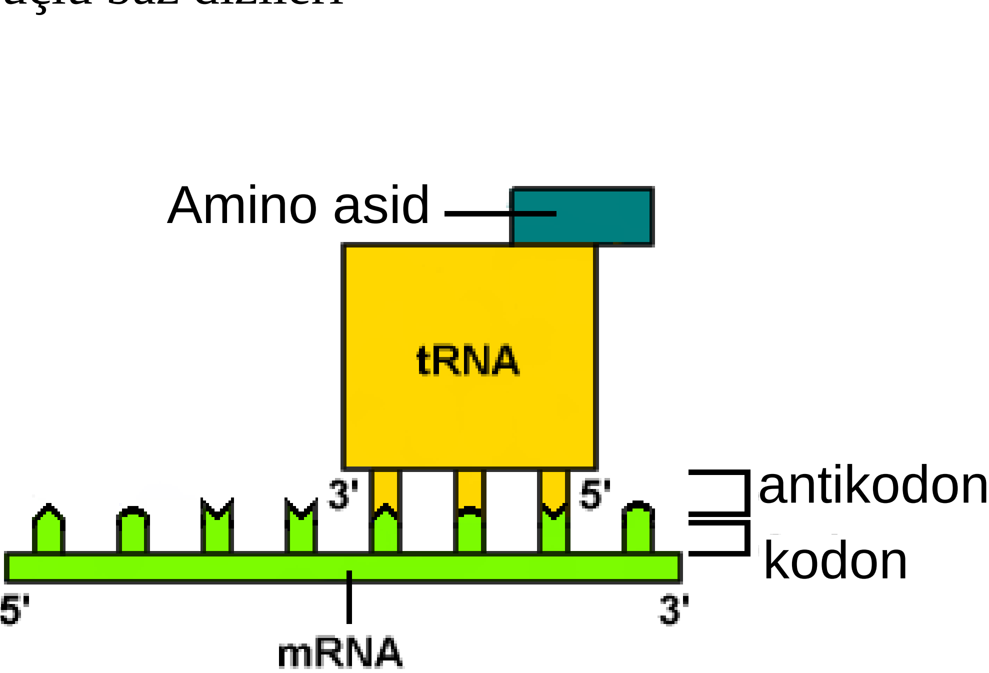
mRNA tarafından taşınan bilgilerin protein dizilerine aktarılmasıdır

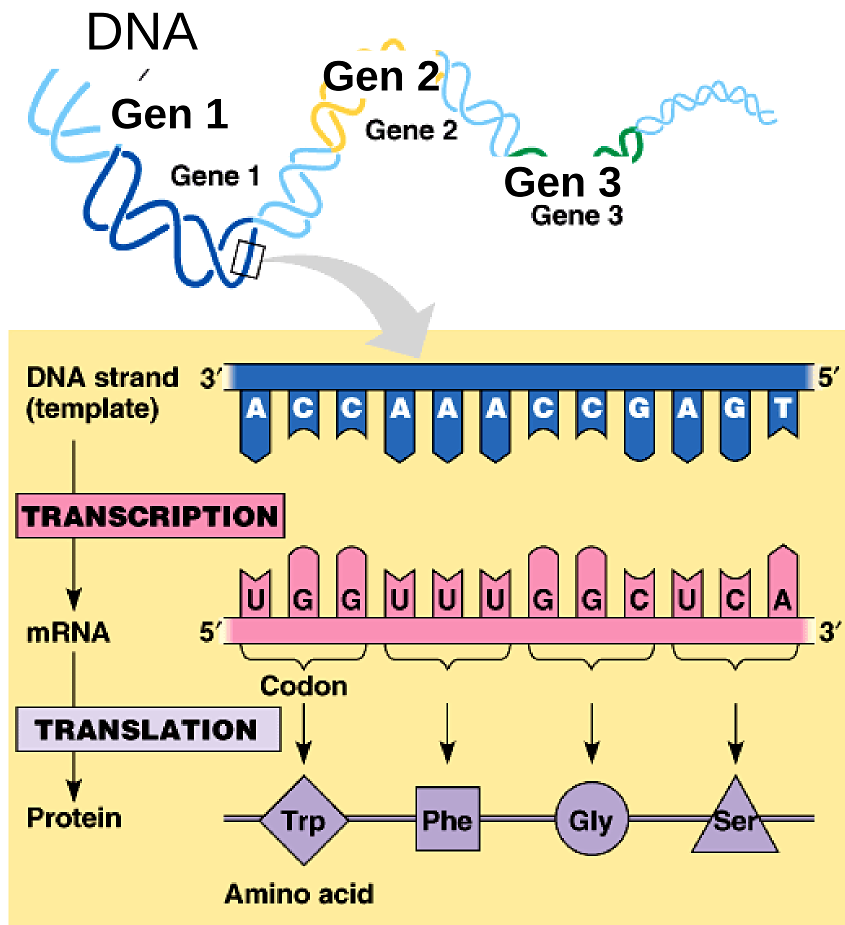


Genetik kod: mRNA üzerinde 5'→3' yönünde nukleotidlerin sıralanması

Kodon – mRNA daki nukleotidlerin 5'→3' yönündeki üçlü dizileri (nukleotid tripletleri)

Antikodon – tRNA'larda, mRNA'lardaki kodonlara baz eşleşmesine uyacak şekilde, üçlü baz dizileri





Genetik kodun özellikleri

- Genetik kod evrenseldir.
- Genetik kod 4 farklı bazın üçlü dizisi şeklinde olduğundan $4^3=64$ kodonu içerir.
- Üçlü kodonun son nukleotidi değişkendir (wobble).

mRNA (3') **3** 2 1 **(5') (kodon)** (diziler 5'→ 3' okunur)

tRNA (5') 1 2 3 **(3') (antikodon)**

Kodonun üçüncü bazı antikodonun ilk bazına uyar.

4. Amino asidler için 3 kodon şifreleme yapmaz - **UAA, UAG, UGA**. Bunlara **anlamsız kodonlar** denir. Hücrede en az 2 tanesi sonlandırma sinyalleri olarak kullanılır. Geri kalan 61 kodon amino asidleri kodlar.

5. 61 kodonun translasyonu için en az 32 tRNA gereklidir.

6. Genetik kod **üst üste gelmeyen** bir özelliktedir. Genetik kodta kodonları ayıran nokta, virgül gibi kesinti yoktur ve mesaj anlamsız bir kodona erişene kadar üçlü bazlardan ibaret bir dizi şeklinde okunur. Nukleotidler birbirini izleyerek yan yana dizilmiştir. Sıranın bir nukleotidinin kayması bile önemli protein değişikliklerine neden olur.

7. **AUG** hem başlangıç metiyonin'in kodonu hem de ara metiyoninlerin kodonudur.

8. 61 kodon 20 amino asid için eşit ve dengeli bir şekilde dağılmamıştır. mRNA'daki herbir amino aside özgü olmak üzere en az 2, 3 veya 4 gibi daha çok sayıda farklı üçlü diziler saptanmıştır.

Kodonların ilk 2 bazının bir aile oluşturduğu düşünülürse, bu 64 muhtemel kodonun 16 aile oluşturabileceği anlaşılır. Bazı ailelerde 4 kodon ayni amino asidi şifreler. Bunlara karışmamış aileler denir. 16 kodon ailesinin 8'i karışmamıştır. Bir amino asidden fazlasını şifreleyen kodon aileleri ise karışıktır (6 aile). Geri kalan 2 aile de UG ve AU aileleridir.

Birinci Baz (5'uç)	İkinci Baz: U	C	A	G	Üçüncü baz (3' uç)
U	UUU Phe	UCU Ser	UAU Tyr	UGU Cys	U
	UUC	UCC	UAC	UGC	C
	UUA Leu	UCA	UAA Dur	UGA Dur	A
	UUG	UCG	UAG Dur	UGG Trp	G
C	CUU Leu	CCU Pro	CAU His	CGU Arg	U
	CUC	CCC	CAC	CGC	C
	CUA	CCA	CAA Gln	CGA	A
	CUG	CCG	CAG	CGG	G
A	AUU Ile	ACU Thr	AAU Asn	AGU Ser	U
	AUC	ACC	AAC	AGC	C
	AUA	ACA	AAA Lys	AGA Arg	A
	AUG Met Başla	ACG	AAG	AGG	G
G	GUU Val	GCU Ala	GAU Asp	GGU Gly	U
	GUC	GCC	GAC	GGC	C
	GUA	GCA	GAA Glu	GGA	A
	GUG	GCG	GAG	GGG	G

mRNA Amino asit genetik kodu

Prokaryotlarda transkripsiyon ve translasyon işlemi aynı anda yürütülür.

Ökaryotlarda ise transkripsiyon işlemi nükleusta gerçekleşir daha sonra mRNA sitoplazmaya geçerek translasyona uğrar

Ökaryotik gen yapısı

Şifrelenen bilgiyi taşıyan (Transkribe edilen) kısım

- Ekzon: Kodlanan bölgeler
- İntron: Kodlanmayan bölgeler

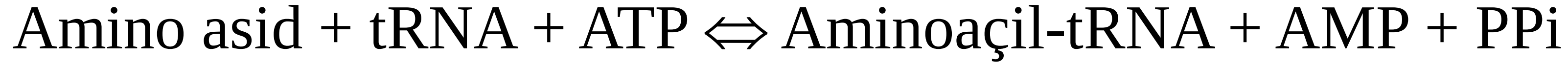
Kontrol dizileri

- Promotor bölge
- 5’ translasyona uğramayan bölge (5’UTR)
- 3’ translasyona uğramayan bölge (3’UTR)
- Enhencer, Silencer, LCR

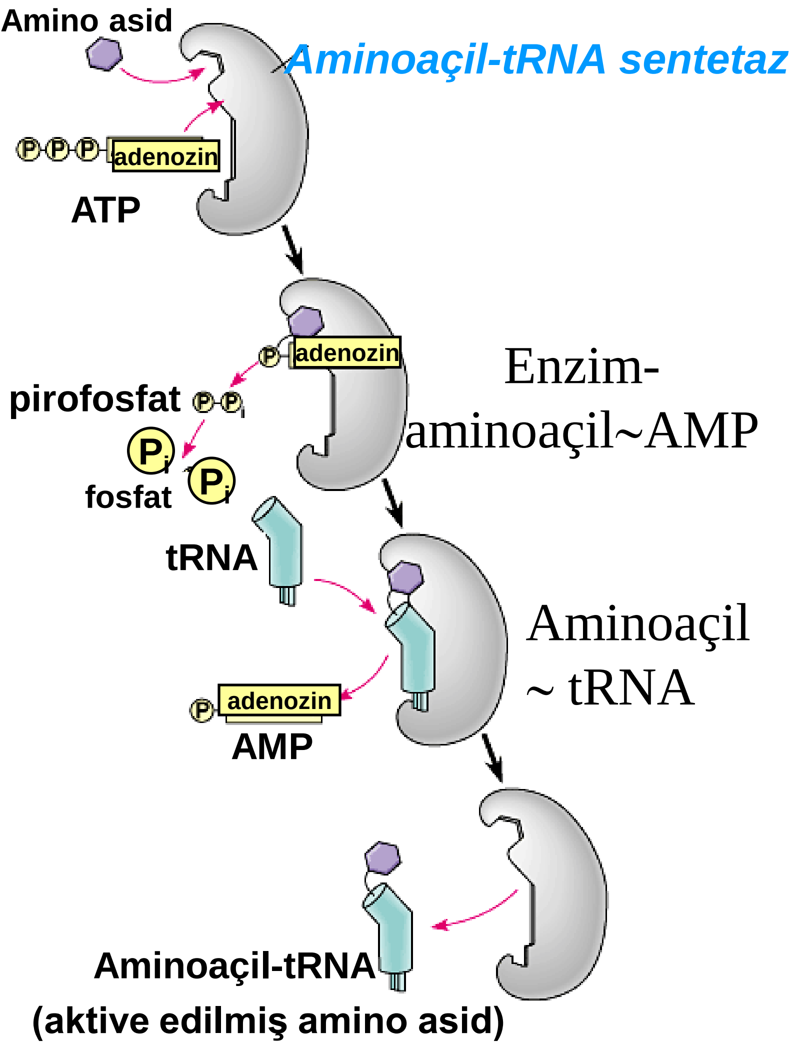
Kontrol dizileri ürünün ne zman ve nerede ne miktarda sentezleneceğini belirler

Protein biosentezinin mekanizması

1. Amino asidlerin aktivasyonu (sitoplazmada gerçekleşir)



Amino asid + tRNA + ATP ⇔ Aminoaçil-tRNA + AMP + PPi



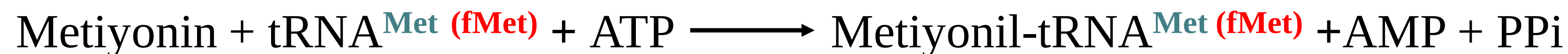
Her amino asid için özel bir enzim bu amino asidi aktive eder. Aktivasyon için gerekli olan kimyasal enerji ATP'tan sağlanır. Bu esnada enzimle birleşmiş olan amino asidin karboksil grubunun ATP ile reaksiyona girmesi sonucunda enzim-aminoaçil~AMP meydana gelir ve PPi açığa çıkar. Bu suretle meydana gelmiş aktive edilmiş amino asidi yine aynı enzimler tarafından tRNA ile birleşerek aminoaçil ~ tRNA oluşur.

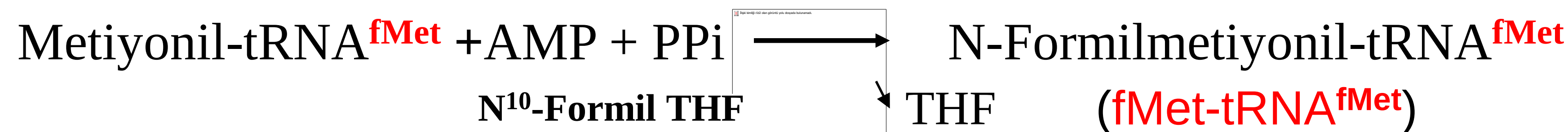
❑ Başlama

- Başlama kodonu AUG'dir
- Her protein sentezi **metiyonin** ile başlamaktadır.
- Hücrede metiyonin için özel iki tRNA türü bulunmaktadır.

\- protein molekülünün içinde herhangi bir noktada yer alan metiyonini taşıyan tRNA – **Met-tRNA^{Met}** şeklinde gösterilmektedir.

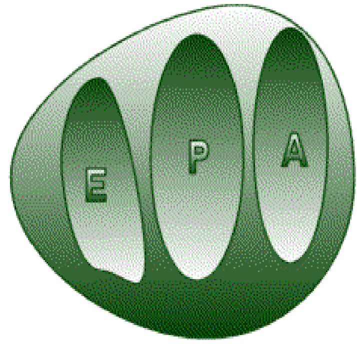
-**fMet-tRNA^{fMet}** şeklinde gösterilen tRNA molekülü, mRNA üzerindeki doğru başlama bölgesini tanıyabilmektedir (başlama kodonuna bağlanmaktadır)





Başlama basamağı 1

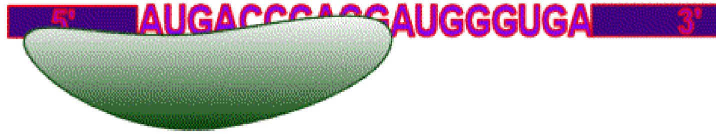
Üç bölgeli ribozom modeli (Danesh Moazed ve Harry Noller tarafından önerilmiş)



P bölgesi – aminoasidlerin polipeptid zincirine eklendiği bölge uzayan peptid zincirini

A bölgesi – gelen aminoaçil-tRNA molekülünün ilk bağlandığı yer

E bölgesi – aminoaçil grubunu veren tRNA molekülünün ribozomu terketmeden önce beklediği bölgedir.



Start kodonu=AUG'na ilk aminoasid olan Metiyonin taşıyan tRNA yerşleşmesiyle başlar.

mRNA molekülünün 5' ucuna küçük ribozom alt birimi molekül boyunca ilerleyerek, Met-tRNA^{fMet} molekülünün antikodonu ile baz eşleşmesi yapabilen AUG kodonuna geldiği zaman protein sentezinin başlama noktasını bulmaktadır.

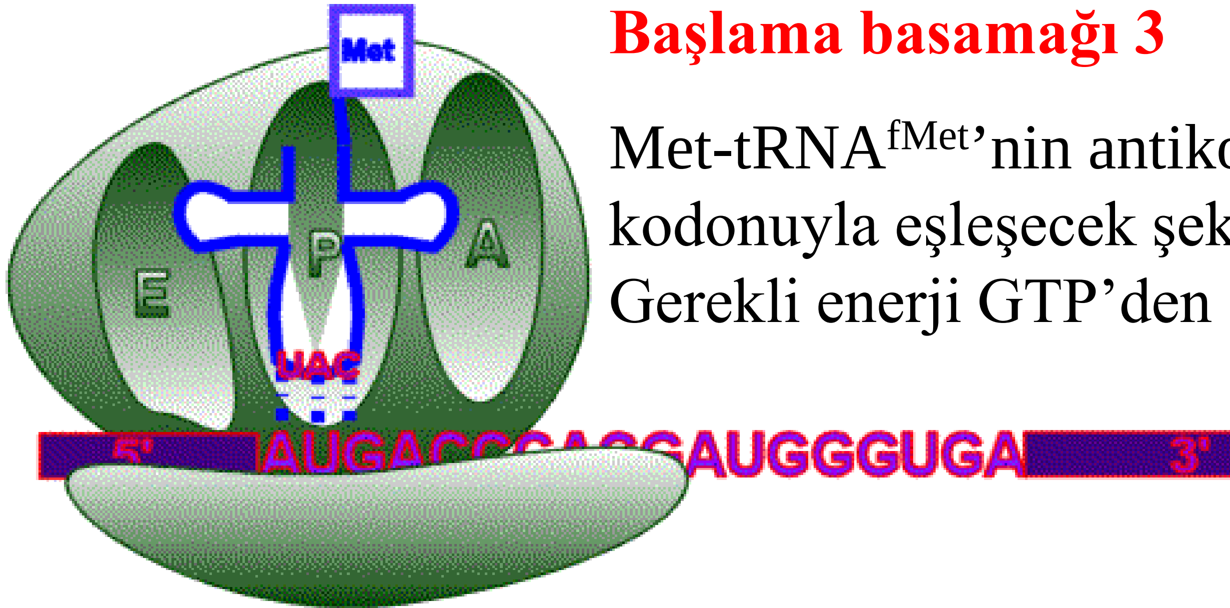
Başlama basamağı 2

Büyük ribozom alt birimi küçük ribozom alt birimine, başlama kodonu (AUG) P konumunda olacak şekilde bağlanır

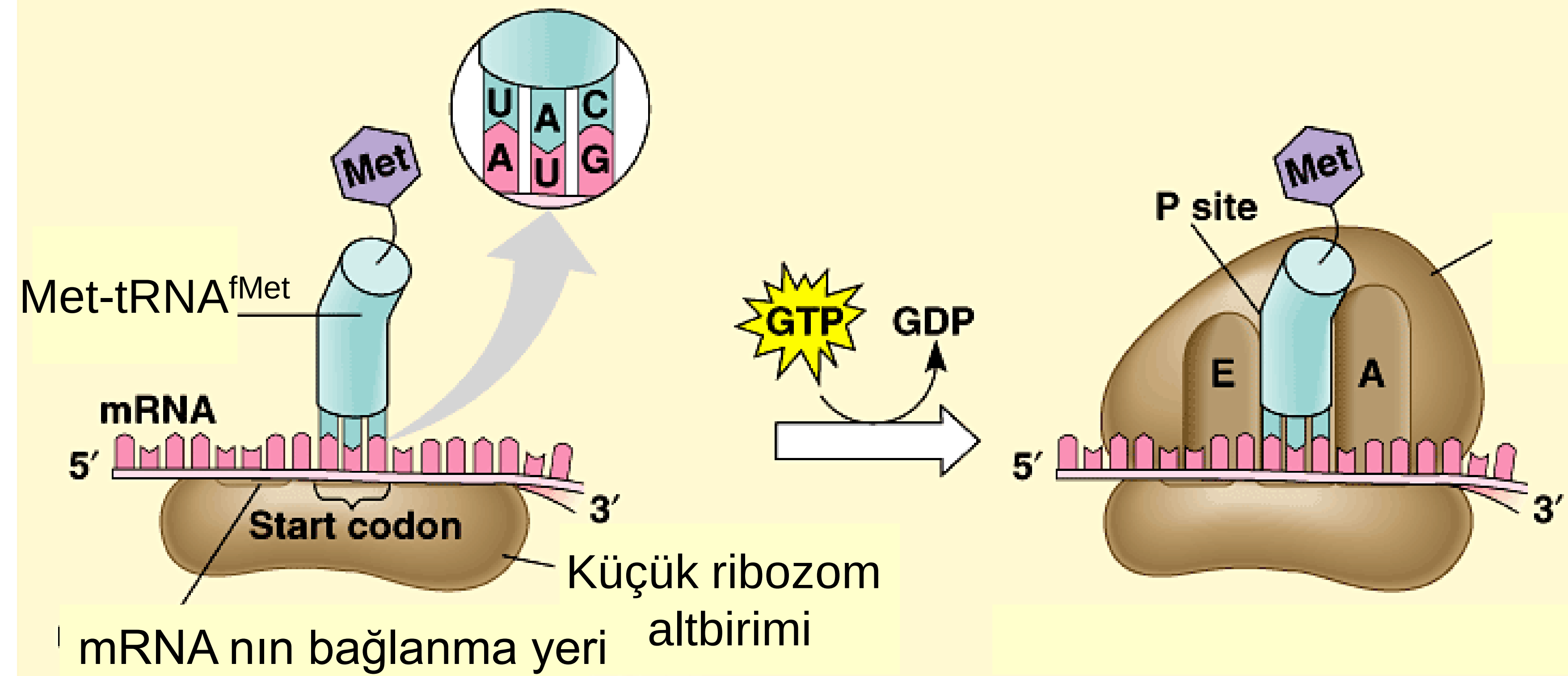


Başlama basamağı 3

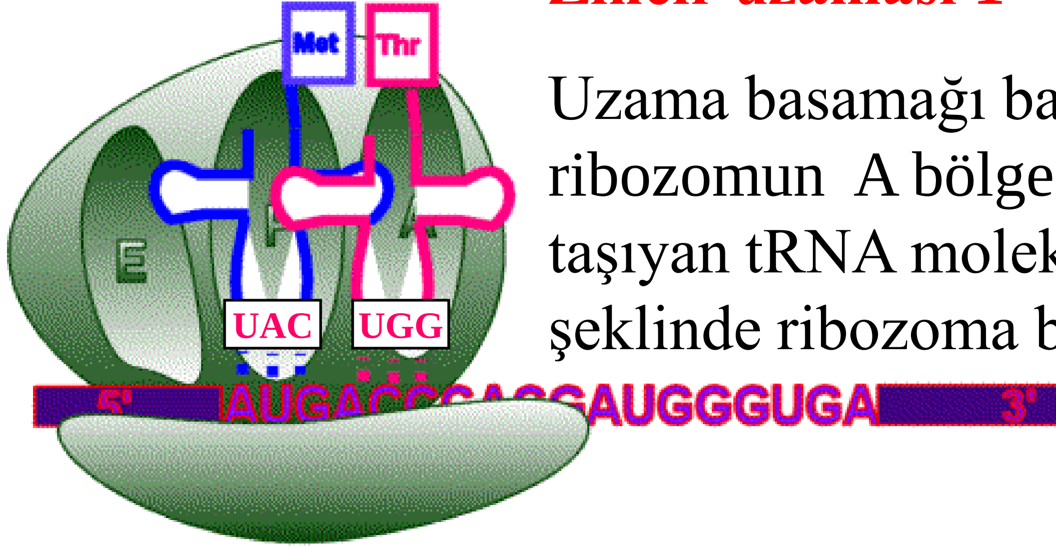
Met-tRNA^{fMet}'nin antikodonu **AUG** başlama kodonuyla eşleşecek şekildedir ve **UAC**'dir. Gerekli enerji GTP'den sağlanır.



Başlama basamağı

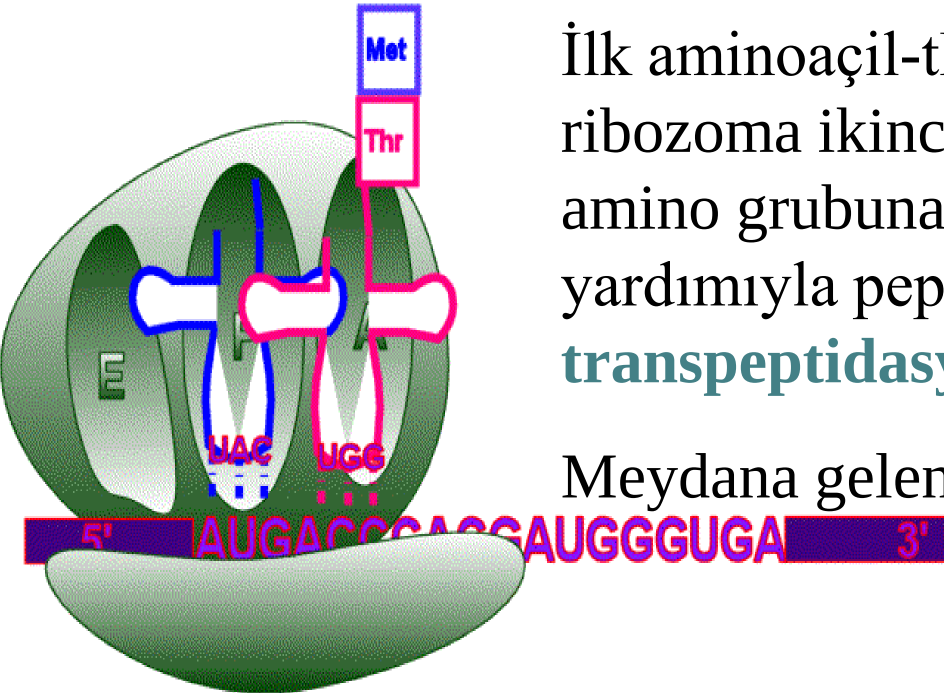


Zincir uzaması 1



Uzama basamağı başlama kodonuna komşu, ribozomun A bölgesindeki kodona ait amino asidi taşıyan tRNA molekülünün aminoaçil-tRNA şeklinde ribozoma bağlanması ile başlamaktadır.

Zincir uzaması 2

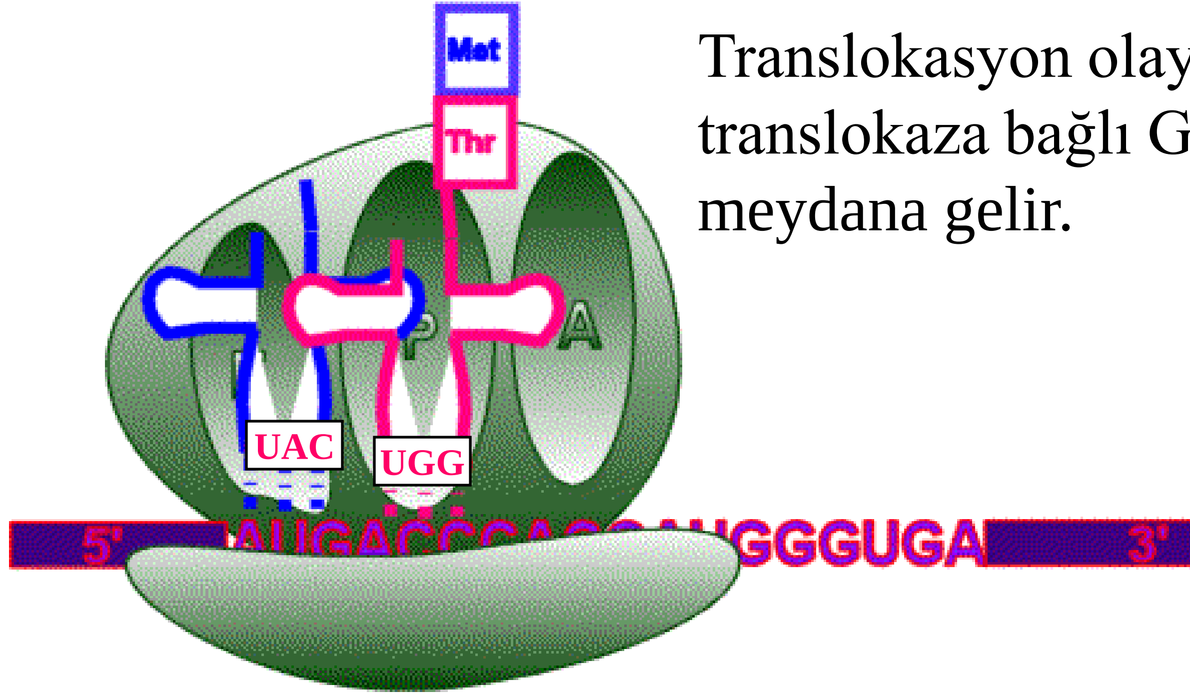


İlk aminoaçil-tRNA nın aminoaçil kalıntısı, ribozoma ikinci olarak gelen aminoaçil-tRNA nın amino grubuna peptidil transferaz enzimin yardımıyla peptid bağı ile bağlanır. Bu tepkimeye **transpeptidasyon** adı verilir.

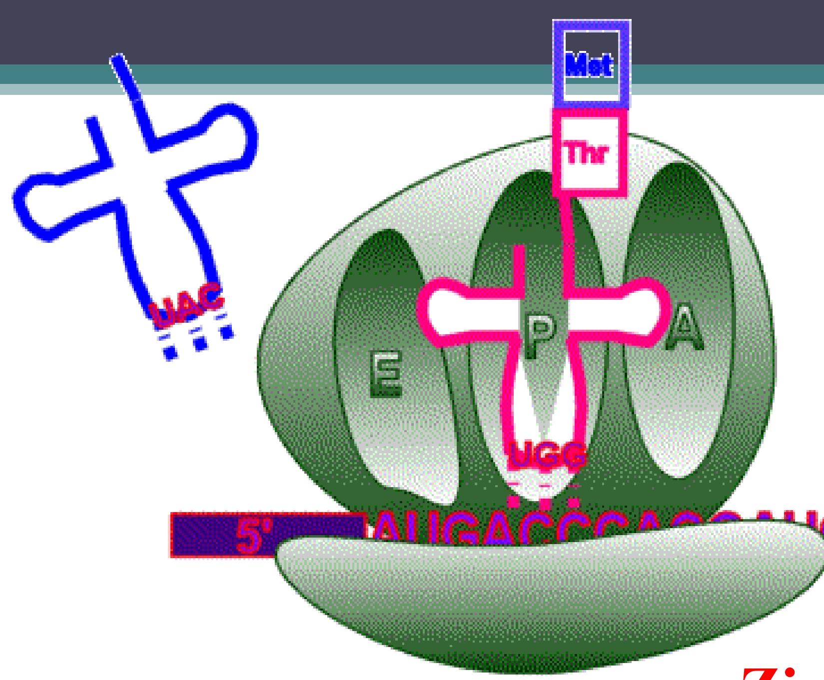
Meydana gelen dipeptid: Met -Thr

Zincir uzaması 3

Translokasyon (yer değiştirme): Ribozom mRNA üzerinde 3' yönünde ve translokaz enzimin etkisiyle P konumu bir sonraki kodonu kapsayacak şekilde hareket eder ve böylece dipeptidil-tRNA A konumundan P konumuna kayar ve deaçil-tRNA E konumuna geçer.

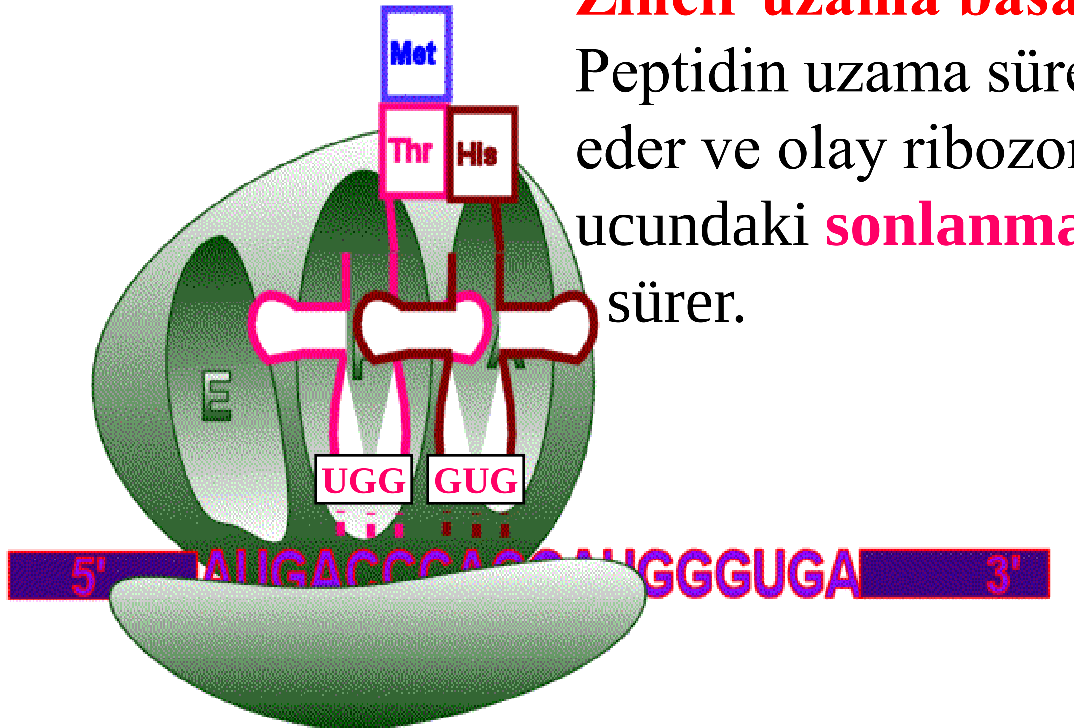


Translokasyon olayı için gereken enerji translokaza bağlı GTP'ın hidrolizi ile meydana gelir.



Zincir uzaması 4

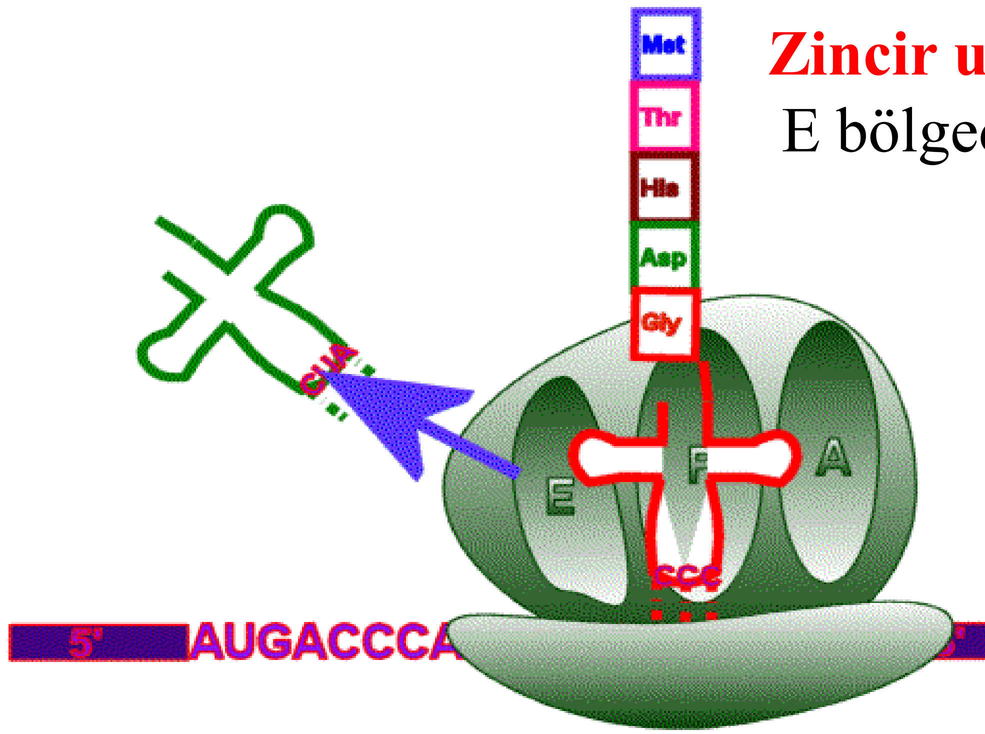
E bölgeden tRNA hidrolitik olarak ayrılarak sitozole geçer.



Zincir uzama basamakları tekrarlanır 1-4

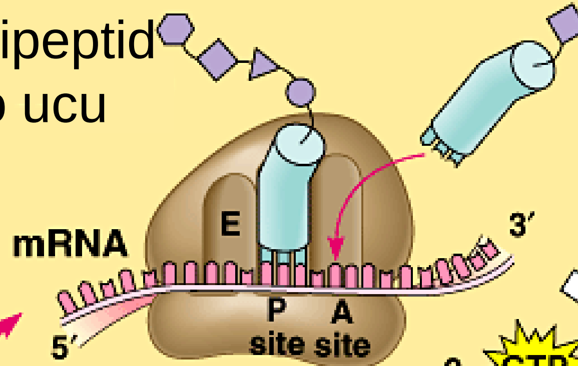
Peptidin uzama süreci bu şekilde devam eder ve olay ribozomun mRNA’nın 3' ucundaki **sonlanma kodonuna** kadar sürer.

Zincir uzaması basamağı deaçil-tRNA'nın E bölgeden ayrılmasıyla son bulmaktadır.



Uzama basamağı

Sentez edilen polipeptid zincirinin amino ucu

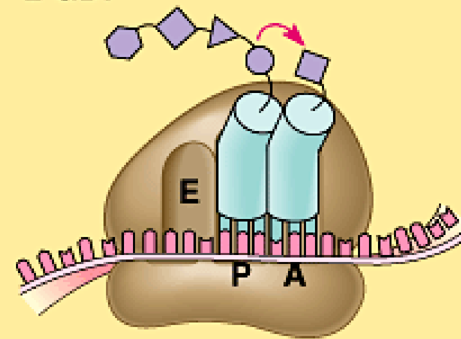


Bir sonraki Bir sonraki aminoaçil-tRNA yı bağlamak için ribozom hazır durumdadır

❶ A bölgesindeki kodona ait amino asidi taşıyan tRNA molekülünün aminoaçil-tRNA şeklinde ribozoma bağlanması

2 GTP

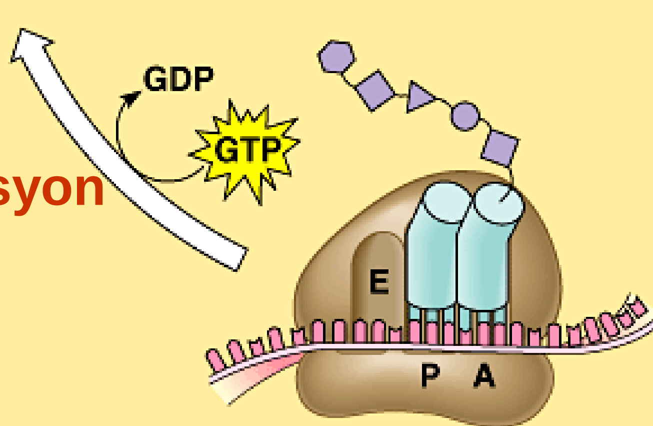
2 GDP



E

P A

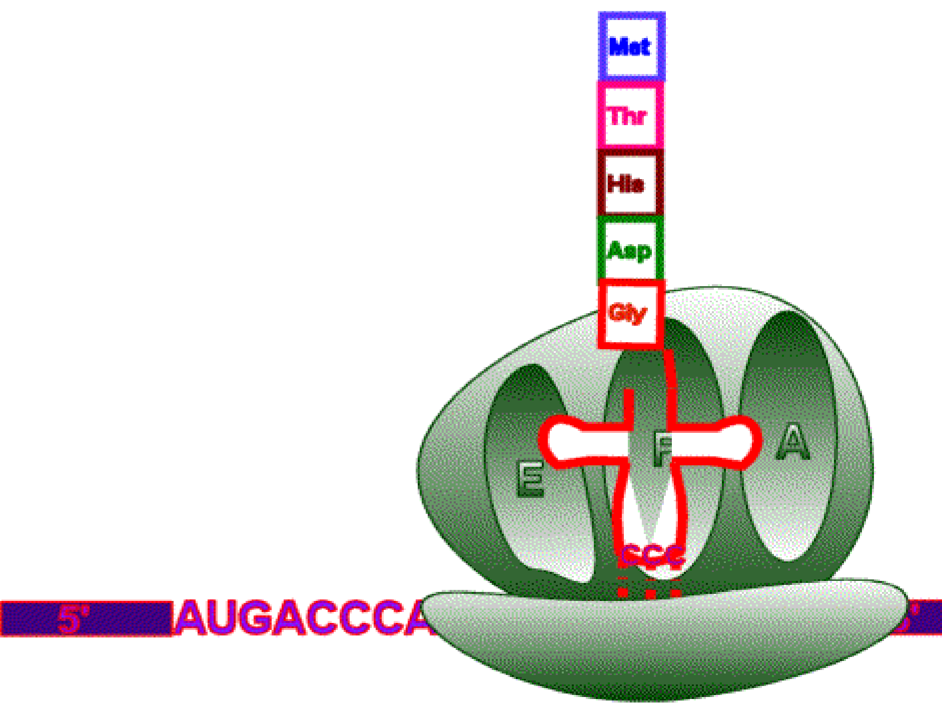
❷ transpeptidasyor



❸ Translokasyon

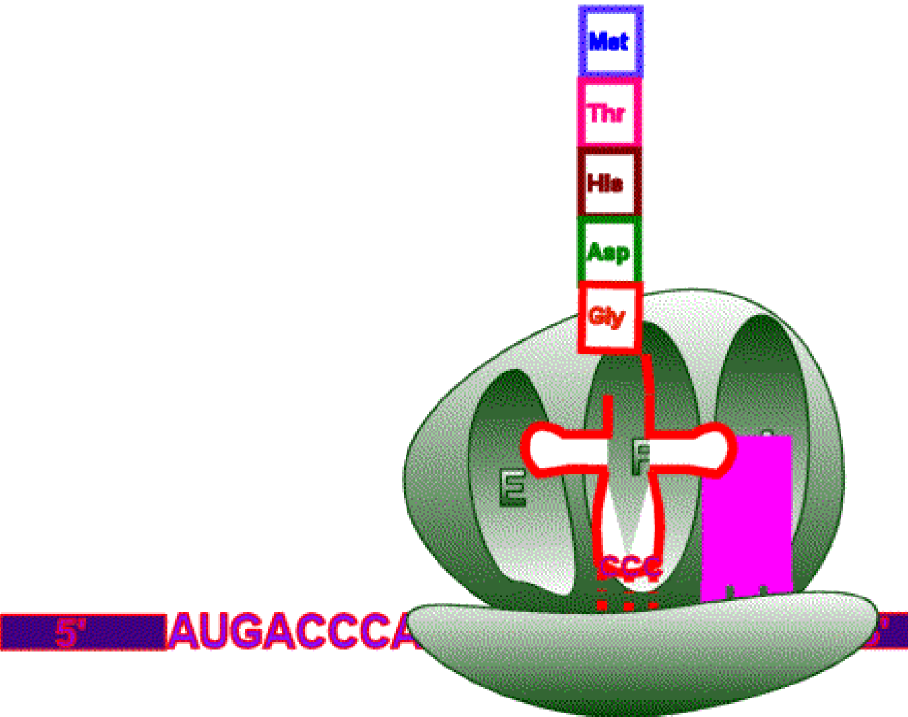
Sonlama basamağı 1.

Polipeptid zinciri P bölgesinde, sonlanma kodonu (UAA, UAG veya UGA) A bölgesindedir.

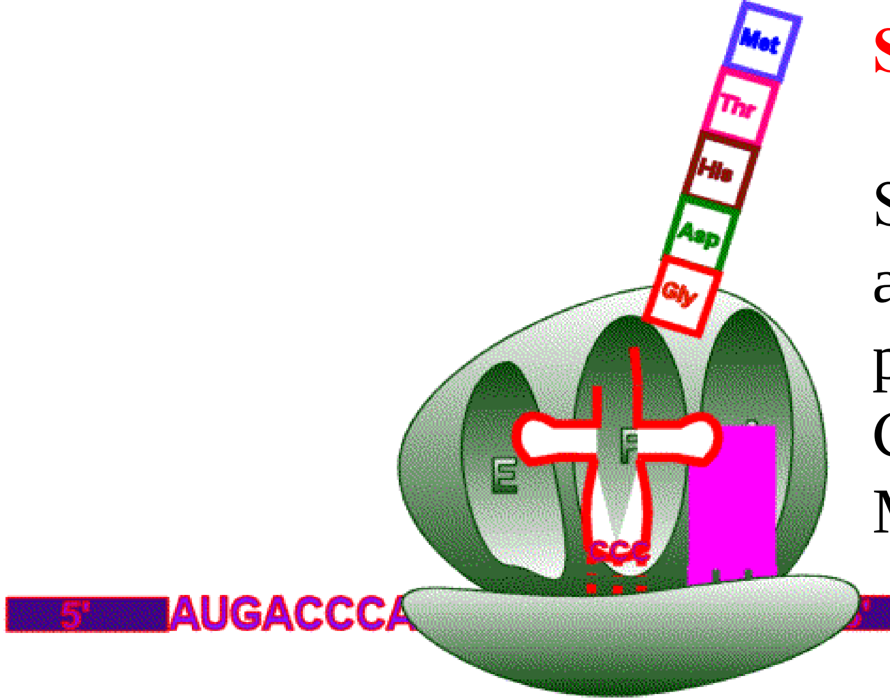


Sonlama basamağı 2.

Sonlanma veya salıverici faktörler (proteinler) A konumundaki sonlanma kodonuna bağlanır.

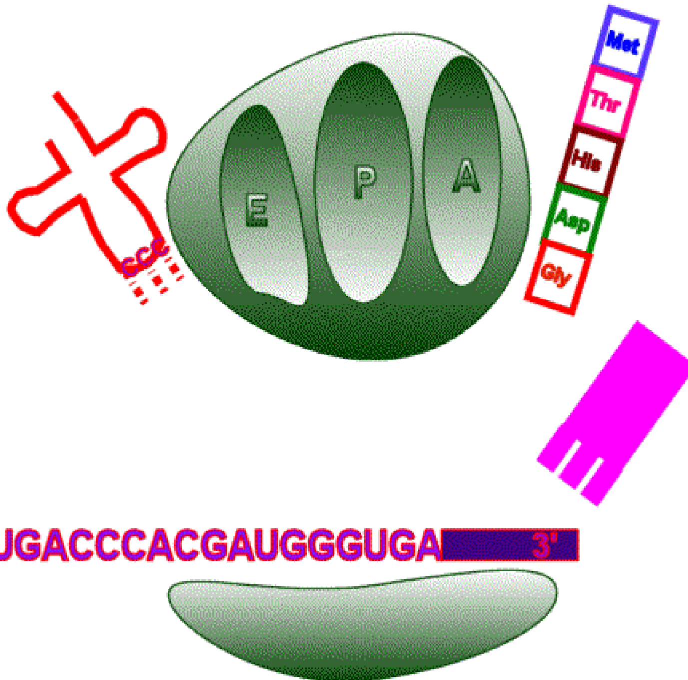


Sonlama basamağı 3.



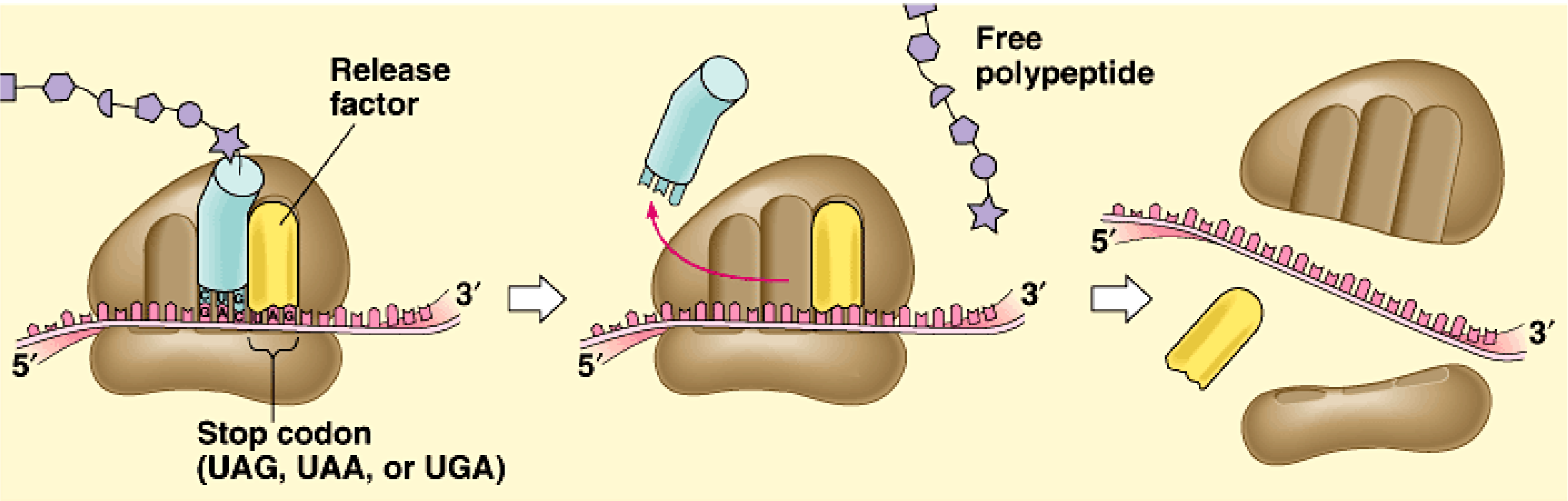
Salıverici faktörlerin esteraz aktiviteleri ile P konumunda bulunan polipeptidil-tRNA'nın tRNA-3'-O-O-C.......... ester bağını hidroliz eder Met-Thr-His-Asp-Gly

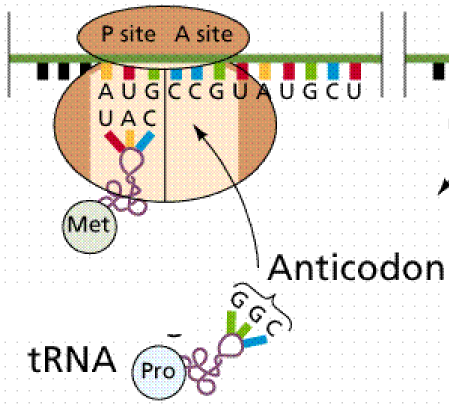
Sonlama basamağı 4.

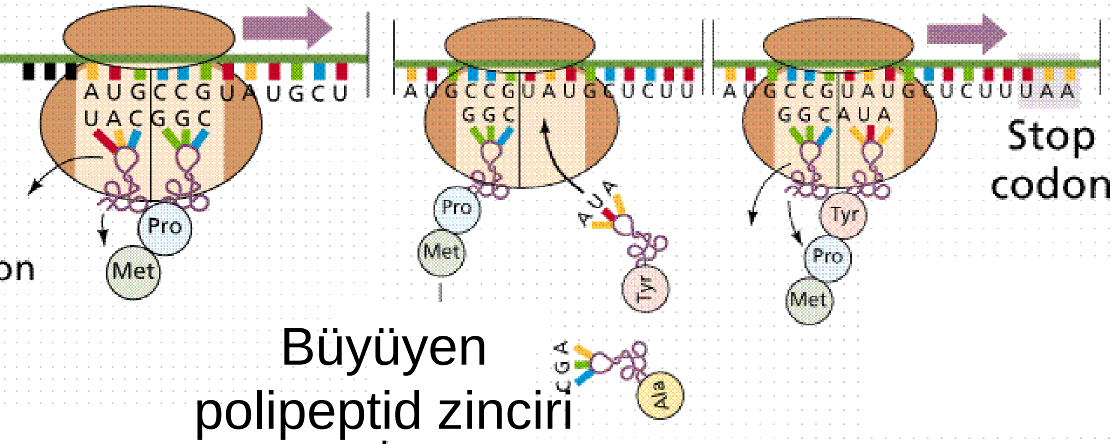


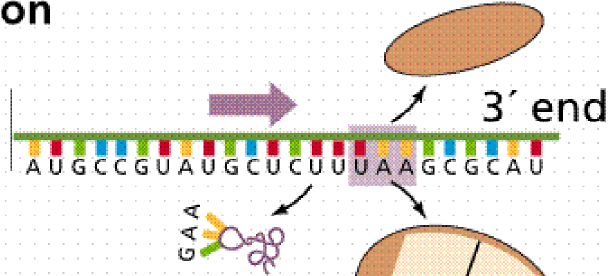
Ayrılan polipeptid ribozom sisteminden dışarı çıkar ve 80s ribozomu yeni bir protein sentezini başlatmak üzere 40s ve 60s alt birimlerine ayrılır.

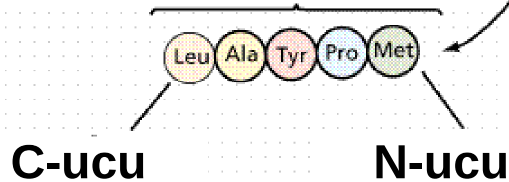
Sonlama basamağın özeti

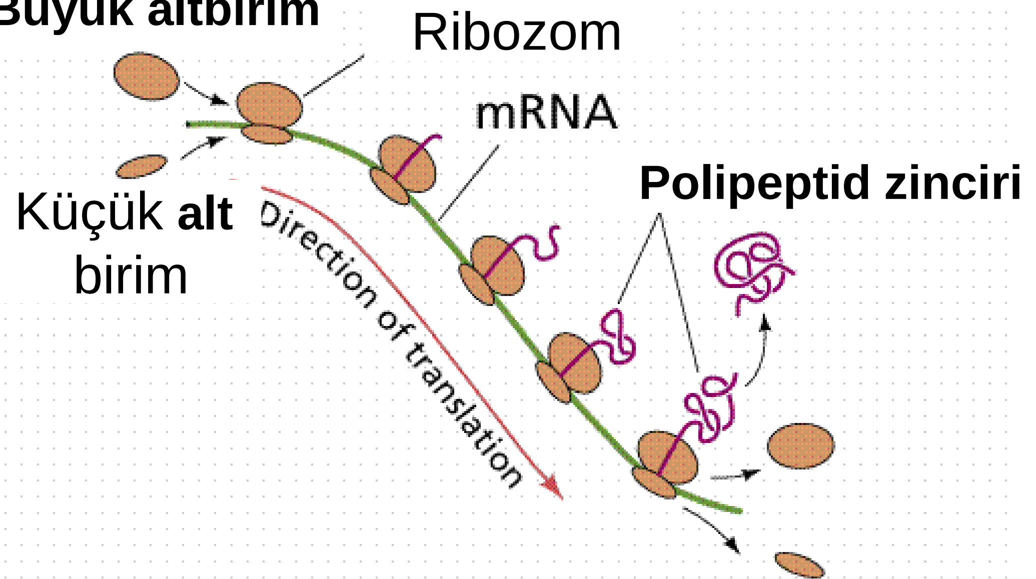












Ribozom mRNA üzerinde ve 3' yönünde ilerlerken, daha sonuna gelmeden, 5' ucuna yeni ribozomlar bağlanarak protein sentezleri başlatırlar. Böylece herhangi bir anda mRNA üzerine birçok ribozom bağlanarak inci dizisi gibi bir görünüm ortaya çıkar. Buna polizom denir.


TEŞEKKÜRLER